



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

**ANALÝZA LÁTEK UVOLNĚNÝCH Z KOMPOZITNÍHO
ZUBNÍHO MATERIÁLU**

ANALYSIS OF SUBSTANCES RELEASED FROM COMPOSITE DENTAL MATERIAL

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Jan Fučík

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.

BRNO 2021

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1495/2020 Akademický rok: 2020/21
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Student: **Bc. Jan Fučík**
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Analýza látek uvolněných z kompozitního zubního materiálu

Zadání diplomové práce:

1. Zpracovat literární rešerši se zaměřením na materiály využívané v zubařství, produkty jejich rozkladu a analýzu pomocí LC/MS.
2. Optimalizovat metodu stanovení látek uvolněných z kompozitního materiálu za různých podmínek.
3. Vlastní experimenty s různými kompozitními materiály.
4. Získané výsledky vhodně zpracovat a vyhodnotit.

Termín odevzdání diplomové práce: 28.5.2021:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Jan Fučík
student(ka)

Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2021

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá aktuální problematikou alternativních zubních výplní, které mají za účel nahradit amalgámové výplně. U těchto alternativních materiálů, konkrétně kompozitních zubních výplní se vyskytují zdravotní obavy z toho, že uvolňují potenciálně škodlivé látky do prostředí ústní dutiny, proto jako i ostatní zdravotnické prostředky podléhají řadě testů před uvedením na komerční trh. Jeden z těchto testů byl proveden na základě normy ČSN EN ISO 10993 a dostupné odborné literatury v rámci experimentální části práce.

V teoretické části práce je stručně popsána kontroverze amalgámu, zubních kompozitů s důrazem na látky tvořící polymerní síť a použité analytické metody. V experimentální části práce byly provedeny až 30denní kumulativní extrakční experimenty do různých prostředí, a to za účelem posouzení vhodnosti nového prozatím komerčně nedostupného zubního kompozitu od firmy ADM, a.s. porovnáním s již komerčně dostupným materiálem od firmy GC EUROPE N.V. Tyto vzorky byly následně vyhodnoceny prostřednictvím LC-MS a bylo kvantifikováno množství uvolněných látek z těchto zubních výplní do extrakčního prostředí.

ABSTRACT

This master's thesis deals with a present problem of alternative dental fillings, which should replace amalgam fillings. Although there are health concerns about these alternative materials, especially resin composite fillings raise concerns, because they release potentially harmful substances into the oral cavity. Accordingly even this medical device subjects various tests before releasing to the commercial market and one of these tests was carried out according to ČSN EN ISO 10993 and available scientific literature in the experimental part of this thesis.

The amalgam controversy, substances used for manufacturing of resin dental fillings and analytical methods are described in the theoretical part of the thesis. In the experimental part of the thesis, 30 days long cumulative extraction experiments were carried out into various extraction mediums in order to assess suitability of new dental resin filling from ADM, a.s. by comparison with commercially available dental material from company GC EUROPE N.V. These samples were analysed by LC-MS and the amount of eluted substances from dental composites to extraction medium was quantified.

Klíčová slova

zubní kompozity, monomery, látky fotoiniciačního systému, oligomery, degradační produkty, kumulativní extrakce, difuze, kapalinová chromatografie, hmotnostní spektrometrie

Keywords

dental composites, monomers, substances of photoinitiator system, oligomers, degradation products, cumulative extraction, diffusion, liquid chromatography, mass spectrometry

FUČÍK, Jan. Analýza látek uvolněných z kompozitního zubního materiálu. Brno, 2021. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/131446>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Ludmila Mravcová.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Chtěl bych poděkovat své vedoucí diplomové práce, paní Ing. Ludmile Mravcové, Ph.D. za její odborné rady a vstřícný přístup při práci v laboratoři.

Obsah

1	ÚVOD	8
2	TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1	Zuby.....	9
2.1.1	Onemocnění zubů a opotřebení zubních tkání	10
2.1.2	Zubní výplně	11
2.1.3	Amalgám.....	11
2.1.4	Řešení problematiky	13
2.2	Restorativní dentální biomateriály	14
2.3	Kompozitní materiály ve stomatologii	16
2.3.1	Výztuž a plnivo polymerní matrice.....	16
2.3.2	Polymerní matrice.....	18
2.4	Fotoiniciační systém.....	19
2.4.1	CQ.....	21
2.4.2	DMAEMA.....	23
2.4.3	BHT	25
2.5	Monomer HEMA	27
2.5.1	Toxicita HEMA	27
2.5.2	HEMA v hmotnostní spektrometrii	28
2.6	Monomer TEGDMA	29
2.6.1	Toxicita monomeru TEGDMA	29
2.6.2	Degradační produkty TEGDMA	30
2.7	Monomer UDMA.....	32
2.7.1	Toxicita monomeru UDMA....	32
2.7.2	Degradační produkty UDMA.....	33
2.8	Monomer BisGMA	35
2.8.1	Toxicita monomeru BisGMA.....	35
2.8.2	BisGMA v hmotnostní spektrometrii.....	36
2.9	Monomer BisEMA	38
2.9.1	Toxicita BisEMA.....	38
2.9.2	BisEMA v hmotnostní spektrometrii.....	39
2.10	BPA	42
2.10.1	Toxicita BPA.....	42
2.10.2	BPA v hmotnostní spektrometrii	43
2.11	Testování zubních kompozitů pro dentální aplikace	43

2.12	Mechanismus uvolnění látek ze zubního kompozitu	44
2.12.1	Difuze látek ze zubního kompozitu.....	44
2.12.2	Eroze a degradace polymerní matrice zubního kompozitu	45
2.13	Analytické metody	48
2.13.1	Kapalinová chromatografie.....	49
2.13.2	Hmotnostní spektrometrie	51
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	55
3.1	Použité přístroje a pomůcky	56
3.2	Použitý software pro zpracování a interpretaci dat.....	56
3.3	Použité chemikálie a standardy	57
3.3.1	Chemikálie.....	57
3.3.2	Standardy	57
3.3.3	Plyny.....	57
3.3.4	Vzorky zubních kompozitů.....	58
3.4	Příprava kalibračních roztoků.....	58
3.4.1	Příprava zásobních roztoků jednotlivých standardů.....	58
3.4.2	Příprava směsných kalibračních roztoků.....	59
3.5	Příprava extrakčních medií.....	60
3.5.1	Solný roztok fosfátem pufrovaný (PBS).....	60
3.5.2	Citráto–fosfátový pufr	60
3.5.3	Roztok umělých slin.....	60
3.6	Podmínky a metody extrakce	61
3.6.1	Příprava vzorků pro inkubaci.....	62
3.6.2	Inkubace vzorků	62
3.6.3	Předúprava a ředění vzorku před analýzou	63
3.6.4	Kumulativní extrakce látek	63
3.6.5	Kvalitativní analýza uvolněných látek ze zubních kompozitů.....	64
3.6.6	Kvantitativní stanovení uvolněných látek ze zubních kompozitů.....	65
4	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	67
4.1	Optimalizace chromatografických podmínek.....	67
4.2	Optimalizace MS	68
4.2.1	Kvalitativní analýza.....	68
4.2.2	Kvantitativní analýza.....	68
4.3	Kvalitativní analýza látek uvolněných ze zubních kompozitů	71
4.4	Kvantitativní analýza uvolněných látek ze zubních kompozitů	82

4.4.1	Kalibrační závislost.....	82
4.4.2	Množství uvolněných látek do extrakčních medií	84
4.5	Hmotnostní úbytek peciček zubních kompozitů.....	95
5	ZÁVĚR.....	97
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ.....	98
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	99
8	SEZNAM PŘÍLOH	101

1 ÚVOD

Zubní onemocnění jsou celosvětově nejrozšířenější typ onemocnění, jelikož postihují více než 90 % světové populace [1, 2]. Poškození zubů způsobené nemocemi nebo opotřebením zubní tkáně je kumulativního charakteru a přirozená regenerační schopnost zubních tkání, je bohužel pro nás, minimální [1, 3–5]. Jakmile zubní tkáně nebo rovnou celý zub utrpí strukturální poškození, tak je orální zdraví člověka v ohrožení. Z tohoto důvodu jsou využívány **výplňové materiály**, umělé zubní náhrady a zubní implantáty, které slouží k obnově poškozeného, neestetického, dysfunkčního zubu nebo přímo k náhradě jednoho či více chybějících celých zubů [4].

Amalgám patří mezi nejpoužívanější výplňové materiály, a to již téměř 200 let, jelikož amalgám je levný, snadno aplikovatelný a odolný materiál [4, 6]. Zubní amalgám je slitina, která je bohužel tvořena z 45–50 hmot. % rtuť [7, 8]. Jenom za rok 2016 bylo v České republice spotřebováno cca 1 367 kg rtuti na amalgámové zubní výplně (cca 2,7 miliónů zubních výplní) [9]. Rtuť obsažená v amalgámech má negativní dopad na životní prostředí a **potenciálně** také negativní vliv na lidské zdraví, avšak organizacemi WHO a FDA je považována za zdravotně nezávadnou [4, 6].

V roce 2013 rozhodla řídící rada Programu OSN pro životní prostředí (UNEP) o vydání tzv. Minamatské úmluvy o rtuti [7, 10]. Tento dokument se zasazuje o spolupráci a opatření na regulaci a omezení používání rtuti a sloučenin rtuti a na snížení jejich emisí do životního prostředí [11]. V návaznosti na tento dokument státy Evropské unie plánují do roku 2030 zcela zakázat využívání amalgámových výplní a některé státy tak již dokonce učinily (např. Norsko, Švédsko, ...) [12, 13]. Jelikož prozatím neexistují žádné alternativní materiály, které by nahradily dlouhodobou trvanlivost, odolnost, snadnou aplikovatelnost a zejména nízkou cenu amalgámových výplní, tak je mimo jiné vyzdvihována **nutnost vývoje nových výplňových biomateriálů** [14, 15].

Za vhodnou alternativu za amalgámové výplně se považují **fotokompozitní výplně**. Avšak u těchto kompozitů se vyskytují obavy z hlediska biokompatibility, jelikož řada vědeckých studií dokazuje, že dochází různými mechanismy k uvolňování potenciálně škodlivých látek (monomery, oligomery, degradační produkty aj.) z těchto materiálů do ústní dutiny [16]. Cílem této diplomové práce je tedy analýza látek uvolněných ze zubních kompozitů v souladu s normou ČSN EN ISO 10 993, která definuje jeden z řady potřebných testů, kterému podléhají nově uváděné fotokompozitní výplně na trh [17].

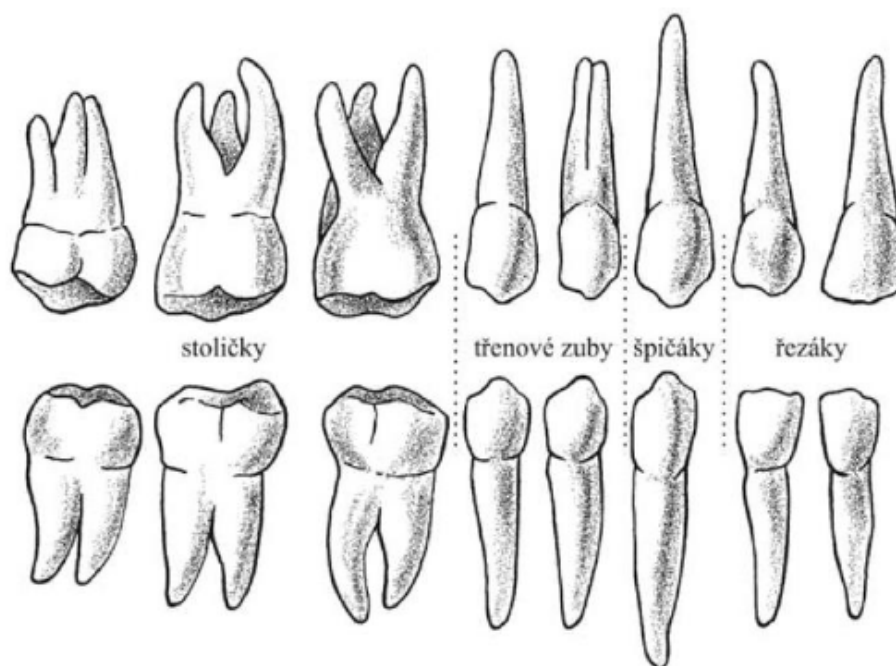
Avšak i přesto, že byla získána data o toxicitě pro řadu používaných látek v zubních kompozitech, tak tyto informace neodráží skutečnou toxicitu v lidském těle, a to zejména kvůli možnému synergickému účinku různých monomerů či jejich degradačních produktů [18, 19]. Toxické účinky těchto uvolňovaných látek na lidský organismus jsou nedostatečně prozkoumány, a to i navzdory již dlouholetému využívání kompozitních výplní [20].

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Zuby

Zub (*dens*, plural *dentes*) je nástroj, který je přizpůsobený k uchopování, mechanickému dělení a rozmělnění přijímané potravy [5, 21]. Zuby se nacházejí v ústní dutině a jsou vsazeny do zubních lůžek (alveolů) v dásňových (alveolárních) výběžcích horní čelisti (*maxilla*) nebo dolní čelisti (*mandibula*) [5, 22]. Alveolární výběžky obou čelistí jsou pokryty dásní. Tyto zuby pak tvoří horní nebo dolní zubní oblouk. Jelikož horní zubní oblouk částečně překrývá dolní zubní oblouk, tak tento vzájemný styk a postavení těchto oblouků vytváří skus (okluzi) [5, 21, 22]. Soubor všech zubů v ústní dutině je označován jako chrup neboli dentice [5, 23]. Veškeré zuby umístěné v jedné polovině oblouku mají společné znaky a jsou nezaměnitelné se zuby druhé opačné poloviny. Na samotné drcení přijímané potravy má vliv tvar hran, hrbolků, valů, jamek a podélných i příčných rýh na žvýkacích ploškách zubů [21].

Podle tvaru a polohy zubů v ústní dutině rozlišujeme zuby na řezáky, špičáky, třenové zuby a stoličky (viz obrázek 1) [21]. **Řezáky** (*dentes incisivi*) s korunkou ve tvaru dlátka, s ostrou kousací hranou a jedním kořenem. Primárním účelem řezáků je ukusování potravy. **Špičáky** (*dentes canini*) slouží především k trhání potravy, jelikož mají silnější korunku a její hrany se sbíhají ve hrot. Kořen tohoto zubu je největší ze všech zubů. **Třenové zuby** (*dentes praemolares*) mají korunku, jejíž kousací plocha je tvořena 2 až 4 hrbolky (v závislosti na umístění třenového zubu), kořeny jsou obvykle u horních třenových zubů 2 a u dolních pouze 1. Tyto zuby se podílejí na trhání a předrozmělnění potravy. **Stoličky** (*dentes molares*) mají kousací plochu tvořenou 3 až 5 hrbolky (v závislosti na umístění stoličky) a jedná se o vícekořenné zuby, jelikož horní stoličky mají obvykle 3 kořeny, kdežto dolní stoličky pouze 2. Stoličky jsou navrženy především k rozmělnění potravy [5, 22].



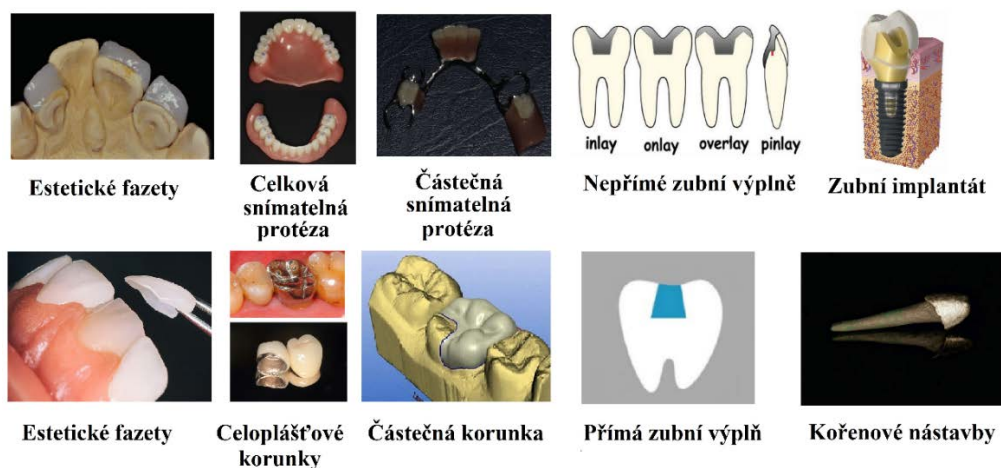
Obrázek 1: Morfologie jednotlivých zubů – řezáky, špičáky, třenové zuby, stoličky; upraveno z [5]

2.1.1 Onemocnění zubů a opotřebení zubních tkání

Onemocnění zubů a ústní dutiny patří celosvětově mezi nejrozšířenější typ onemocnění, jelikož postihují více než 90 % světové populace [1, 2]. Mezi běžná onemocnění patří zubní kazy, periodontální onemocnění, nádory ústní dutiny, poruchy vývoje zubů, onemocnění zubní dřeně, nebo také různé úrazy zubů [1, 24]. V průběhu našeho života také dochází k opotřebování zubních tkání, kde jsou rozlišovány 4 různé mechanismy, a to abrakce, atrice, abraze a koroze. Onemocnění zubů a opotřebení zubních tkání má závažný dopad na lidské zdraví [1, 3, 24].

Zdravé zuby jsou potřebné ke kvalitnímu požitku z jídla (masticační funkce), pro srozumitelnou řeč (fonační funkce), z hlediska krásy, jelikož napomáhají udržet tvar tváře a jsou viditelné zejména při úsměvu (estetická funkce). Zdravé zuby se projevují i na psychické stránce člověka, a to především na velikosti sebevědomí člověka (funkce psychologická a společenská). Nicméně zdravé zuby jsou důležité i z pohledu celkového zdravotního stavu, jelikož v případě infekce v ústní dutině se mohou objevit další zdravotní problémy [25, 26]. Proto je velmi důležitá prevence zubních onemocnění, jelikož předcházet potenciálním problémům lze správnou zubní hygienou (správná technika čištění zubů, vhodný kartáček, ústní voda a zubní pasta s vysokým obsahem fluoridů), správným stravováním (omezení konzumace potravin a nápojů s nízkým pH a bohatých na sacharidy) atd. [27]. Avšak na vznik onemocnění zubů a ústní dutiny má vliv řada faktorů, jako je sociální prostředí (ekonomické zázemí, dosažené vzdělání, zdravotní péče), ale také neduhy jako je tabák a alkohol [28]. Nicméně i přesto, že většina zubních onemocnění je preventabilních, tak se jedná o celosvětově nejrozšířenější typ onemocnění [1].

Poškození zubů způsobené nemocemi nebo opotřebováním zubní tkáně je kumulativního charakteru a přirozená regenerační schopnost zubních tkání je minimální. Proto jsou běžně využívány **výplňové materiály**, umělé zubní náhrady a implantáty, které slouží k obnově poškozeného, neestetického, dysfunkčního zubu nebo přímo k náhradě jednoho či více chybějících celých zubů. Na *obrázku 2* je uveden stručný přehled nejpoužívanějších typů zubních náhrad, které jsou vyrobeny z celé řady různých materiálů. Nicméně tato diplomová práce je dále zaměřena pouze na **přímé zubní výplně** [4, 5].



Obrázek 2: Přehled nejpoužívanějších typů zubních náhrad; upraveno z [7, 29–34]

2.1.2 Zubní výplně

Zubní výplně rozdělujeme na přímé a nepřímé, a to podle způsobu jejich aplikace. Přímé výplně (neboli plomby) jsou aplikovány zubařem přímo do kavity zubu [23]. Zatímco nepřímé výplně jsou zhotoveny mimo ústa pacienta, konkrétně v laboratoři podle vyrobeného otisku [22].

Přímé zubní výplně jsou používány v případech, kdy nejsou defekty zubu nijak rozsáhlé a žvýkací tlak není příliš velký. Při terapii zubního kazu je nejdříve odstraněna destruovaná zubní tkáň a následně je vyplněn defekt zubu pomocí připraveného plastického výplňového materiálu, čímž je obnovena původní morfologie zubu a je chráněna zdravá tvrdá kostní tkáň [23, 33]. Mezi používané výplňové materiály patří **nejčastěji stále amalgám**, polymerní kompozity (např. **fotokompozitní výplně**), skloionomerní cement, zlato, nebo pryskyřičný cement [7, 23].

2.1.2.1 Statistika zubních výplní v ČR

V České republice nejsou evidovány počty případů zubního kazu a ani počty aplikovaných zubních výplní. Z tohoto důvodu neexistuje skutečně reprezentativní studie, která by tyto počty odhadovala a je zároveň nemožné vyjádřit podíl amalgámových výplní a jejich alternativ. Nicméně amalgámové výplně jsou hrazené z veřejného zdravotního pojištění a zubní lékaři vykazují pouze počet *ošetření zubního kazu pro stálý chrup*, a to buď samopolymerující pryskyřicí anebo amalgámem. Jelikož se předpokládá, že podíl pryskyřic je zanedbatelný, tak počet těchto úkonů odpovídá počtu amalgámových výplní (*viz tabulka 1*), kde současná spotřeba rtuti na jednu zubní amalgámovou výplň představuje 0,5 g rtuti [9].

Tabulka 1: Předpokládaný počet zubních výplní v ČR za jednotlivé roky [9]

Rok	2010	2011	2010	2013	2014	2015	2016
Počet zubních výplní	3 890 724	3 754 832	3 578 140	3 330 157	3 052 782	2 929 897	2 732 974

2.1.3 Amalgám

Amalgám je v současné době nejpoužívanější výplňový materiál, a to již téměř 200 let, jelikož amalgám je levný, snadno aplikovatelný, odolný materiál, ale neestetický kvůli šedému vzhledu [6, 7, 33]. Zubní amalgám je slitina rtuti (45–50 % hmotnosti) a dalších kovů, zejména stříbra, zinku, mědi a dalších kovů ve stopovém množství. Důsledkem unikátního složení amalgámu jsou jeho vhodné vlastnosti pro dentální aplikace, jako je především pevnost a jeho trvanlivost s průměrem 8 až 10 let [7, 8]. Nicméně rtuť obsažená v amalgámech má negativní dopad na životní prostředí a **potenciálně** také negativní vliv na lidské zdraví (**kontroverzní téma**) [6, 33].

2.1.3.1 Vliv amalgámu na lidské zdraví

Kontroverze vlivu amalgámu na lidské zdraví trvá již více než 40 let, viz jedna z prvních studií ([35] z roku 1979) tvrdící, že amalgám není stabilní ani inertní [6, 36]. Rozvoj analytických metod potvrdil, že dochází ke kontinuálnímu uvolňování rtuti ze zubních výplní a k jeho akumulaci ve tkáních (podle WHO největším zdrojem jsou právě zubní výplně) [6, 37, 38]. Nicméně i přes uvolňování rtuti z výplní není jednoznačně dokázán negativní vliv rtuti z amalgámu na lidské zdraví [39]. A to i přesto, že byla nalezena korelace u lidí se zubními výplněmi z amalgámu a se zvýšenými koncentracemi rtuti ve vydechovaném vzduchu, ve slinách, v krvi (odráží nedávnou expozici rtuti), v moči a v ostatních tkáních, zejména v ledvinách, kde dochází k dlouhodobé akumulaci rtuti [6, 37]. Uvolňování rtuti ze zubních výplní je urychleno mechanickým třením zubů o sebe a rozpouštěním rtuti ve slinách. Rychlost uvolňování rtuti je ovlivněna následujícími faktory: velikostí zubní výplně/počtem amalgámových ploch (každý zub až 5 potenciálních ploch – meziální, distální, linguální, bukální, okluzní plocha), polohou zubu a umístěním výplně, žvýkáním (po žvýkání jsou vydechované koncentrace rtuti vyšší), strukturou přijímané potravy, čištěním zubů, ale také velikostí a stářím zubní výplně [6, 35, 40]. Významná je i expozice při ošetřování zubního kazu amalgámem, zejména při zavádění (poté už rtuť není uvolňována ve vysokých koncentracích) nebo při odstraňování amalgámové výplně [39].

Z hlediska toxicity se WHO snaží o to, aby amalgám nebyl srovnáván se rtutí elementární, anorganickou nebo organickou, protože i přes rozsáhlý výzkum nebyl potvrzen negativní vliv amalgámových výplní na lidské zdraví. Mezinárodní organizace se shodují na tom, že amalgám je bezpečný a efektivní materiál pro výplň zubních kavit [41].

2.1.3.2 Amalgám jako zdroj znečištění životního prostředí

Rtuť je všudypřítomná v životním prostředí, proto jsou jí zvířata, lidé a další živé organismy vystaveni vzduchem, vodou, ale i potravou [38, 42]. Rtuť ze zubního amalgámu se dostává do životního prostředí skrze kontaminované odpadní vody ze zubních ordinací, z lidské moči a exkrementů nebo také kremací lidských těl, které mají amalgámové zubní výplně [43].

Vědecké studie zjistily, že odpadní vody ze zubních ordinací produkují 10 až 70 % z celkového znečištění odpadních vod rtutí [44]. Nicméně tyto výplně kromě rtuti (Hg), také obsahují stříbro (Ag), cín (Sn), měď (Cu) a zinek (Zn) a další kovy, kterými se vědecké studie nezabývají i přesto, že koncentrace těchto kovů v odpadních vodách jsou nežádoucí. Navíc zvýšené koncentrace těchto kovů mohou být toxické pro mikroorganismy, které jsou využívány na čistírnách odpadních vod [45].

Každý jedinec se zubní výplní z amalgámu zatěžuje životní prostředí stopovým množstvím rtuti, jelikož v průběhu života dochází vlivem žvýkání k uvolňování rtuti z výplně, která se dostává do odpadních vod prostřednictvím moči a exkrementů [43]. Jelikož okolo 75 % lidí v Evropě má amalgámové zubní výplně (odhadem 1 500 tun rtuti), tak potenciálním zdrojem emisí je také kremace lidských těl v krematoriích [12]. Předpokládá se, že v roce 2010 bylo kremací vypuštěno 0,9–11,9 tun rtuti do atmosféry (odhad nezahrnuje emise během produkce a přípravy amalgámu) [46].

2.1.4 Řešení problematiky

V návaznosti na konferenci v roce 2009, WHO vydala dokument „*Future Use of Materials for Dental Restoration*“, s důrazem na možný vliv rtuti na lidské zdraví a na kontaminaci životního prostředí rtutí z amalgámu. I přes snahu o prevenci zubních kazů, jsou stále celosvětovým problémem a z toho důvodu jsou stále nutné zubní výplně. Navzdory existujícím alternativním výplňovým materiálům, je amalgám stále efektivní a používaným řešením. Proto mezinárodní organizace, včetně WHO vyjádřili i nadále podporu pro využívání amalgámu, jako výplňového materiálu i přes jeho negativní dopad na životní prostředí. Nicméně na konferenci byla jednohlasně jmenována řada důležitých vědeckých témat pro řešení této problematiky, jako je prevence zubních kazů, zlepšení diagnostiky zubních kazů, ale také **nutnost vývoje nových výplňových biomateriálů**, které by byly levné, snadno zpracovatelné, a tak dostupné pro širokou veřejnost [15].

V roce 2013 rozhodla řídící rada Programu OSN pro životní prostředí (UNEP) o vydání globálně závazného právního dokumentu, tzv. Minamatské úmluvě o rtuti (platnost v Evropské unii a v České republice od roku 2017) [7, 9, 10]. Tento dokument se zasazuje o spolupráci a opatření na regulaci a omezení používání rtuti a sloučenin rtuti a na snížení jejich emisí způsobených lidskou činností do ovzduší, vody a půdy. Cílem této úmluvy je chránit lidské zdraví, ale i životní prostředí před nežádoucími účinky rtuti [11]. V rámci této úmluvy je snaha o snížení užívání amalgámů jako zubních výplní, ale zároveň poskytnutí co nejkvalitnější zdravotní péče (proto nejsou přímo zakázány) [7]. Strategie vedoucí ke snížení expozici zubnímu amalgámu doporučuje prevence vzniku zubního kazu, užívání amalgámových separátorů a **zubní výplně, které neobsahují rtuť** [9, 10].

Od 1. 7. 2018 se podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/852 nesmí používat zubní amalgám u dětí mladších 15 let ani u těhotných či kojících žen. Od 1. 1. 2019 nesmí být používán při stomatologických ošetřeních nedózovaný amalgám na zubní výplně, a proto zdravotní pojišťovny plně hradí pouze plomby z dózovaného amalgámu. Podle Národního plánu ČR (týkajícího se opatření pro postupné omezování používání zubního amalgámu) patří Česká republika mezi země s nejvyšším užíváním zubního amalgámu v přepočtu na jednoho obyvatele státu [9].

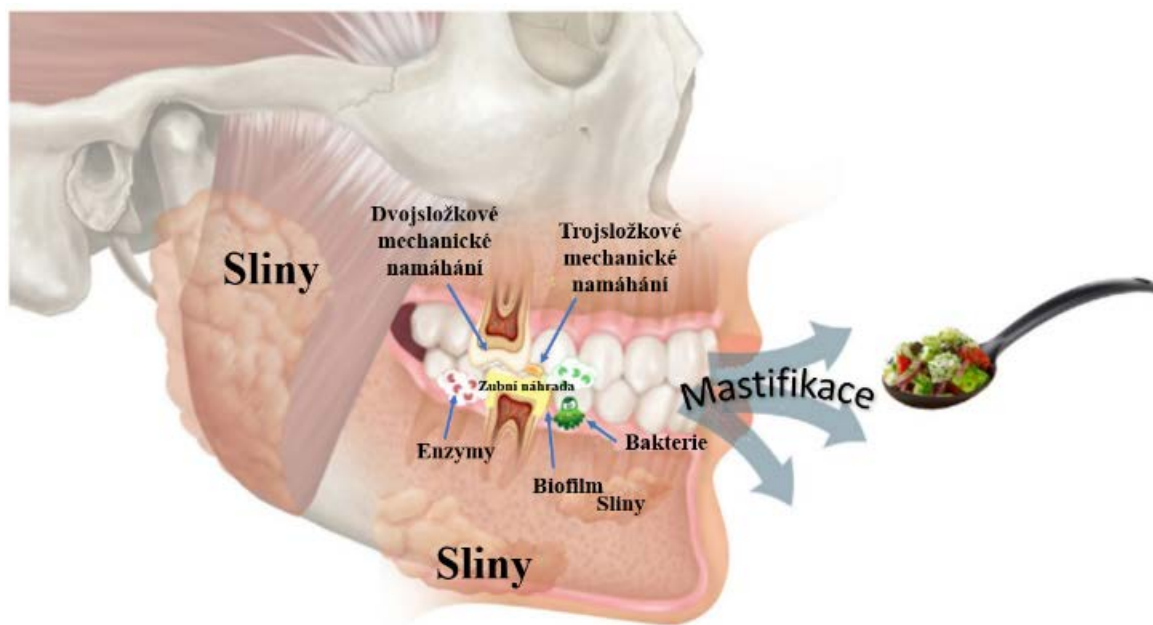
Státy Evropské unie by chtěly do roku 2030 zakázat využívání amalgámových výplní úplně [12]. V některých zemích byl dokonce již amalgám zakázán např. v Japonsku, ve Švédsku, v Norsku a další Evropské státy je následují [13, 23, 47]. Spotřeba amalgámových výplní klesá, také s rozvojem nových materiálů, které jsou adhezivní, barvou blízké zubům, a především neobsahují rtuť. Mezi vhodné využívané alternativy patří kompozitní pryskyřice (**fotokompozitní výplně**), skloionomerní výplně, ale objevují se i keramické kompozitní výplně a různé slitiny kovů (zlato) [33, 48–51]. Nevýhodou těchto alternativních výplní je zejména vyšší cena, proto by rozvojové země mohly mít ekonomické problémy s jejich přijetím, ale i praktické problémy s jejich aplikací kvůli nedostačujícím zdrojům energie a vody. Neexistují prozatím žádné alternativní materiály, které by nahradily dlouhodobou trvanlivost (až 12 let), odolnost, snadnou aplikovatelnost a zejména nízkou cenu amalgámových výplní [49].

2.2 Restorativní dentální biomateriály

Biomateriál lze definovat jako jakýkoliv materiál (syntetického nebo přírodního původu; povahy anorganické: kovy či keramika, povahy organické: polymery nebo **povahy kompozitní**), který je určený pro medicínské aplikace, nacházející se tedy v kontaktu s biologickým systémem [52]. Biomateriály mají celou řadu využití, ale obecně jsou aplikovány za účelem léčby nebo **náhrady tkáně**, orgánu nebo funkce lidského těla, a to způsobem bezpečným, ekonomickým a fyziologicky akceptovatelným. Úspěch biomateriálů či implantátů je závislý na třech hlavních faktorech, tedy na vlastnostech (i biokompatibilitě) implantátu, na zdravotním stavu pacienta a na dovednostech lékaře [53, 54].

Jelikož dentální restorativní materiály slouží k náhradě chybějící zubní tkáně, tak musí být podobné zubní tkáni ve svých **mechanických, fyzikálních a estetických vlastnostech** [48, 55]. I přesto, že se jednotlivé typy dentálních materiálů mezi sebou značně odlišují, tak jsou všechny vystaveny náročným a rozmanitým podmínkám ústní dutiny (*viz obrázek 3*) [48, 56]. Dentální materiály jsou vyrobeny, tak aby byly **maximálně odolné a inertní**, ale i přesto dochází k jejich narušení, degradaci nebo selhání zubní náhrady, což je doprovázeno uvolňováním složek materiálu do ústní dutiny. Z tohoto důvodu je nutné, aby si dentální materiály dokázaly zachovat integritu, ale také své vlastnosti včetně **biokompatibility** [48]. Biokompatibilita je přijetí umělého implantátu okolní tkání a tělem celkově. Biomateriál nesmí být degradován okolním prostředím v těle a jeho přítomnost nesmí mít negativní vliv na okolní tkáně ani orgány. V případě, že biomateriál není navržen tak, aby nepodléhal degradaci, jeho degradační produkty nesmí mít negativní efekt na tkáně a orgány [54].

Tyto restorativní materiály musí vydržet žvýkací tlak, vodní prostředí, působení mikroorganismů, změny pH (od kyselého až po zásadité), značné výkyvy teploty, ale také působení enzymů v ústní dutině [48].



Obrázek 3: Rozmanité podmínky v ústní dutině; upraveno z [48]

Během žvýkání dochází k cyklickému mechanickému namáhání (dvousložkový otěr – atrice a trojsložkový otěr – abraze), k teplotním změnám, proto je povrch materiálu postupně opotřebováván. Dochází tedy postupně k uvolňování složek z materiálu do ústní dutiny (žvýkáním, čištěním zubů apod.) [48, 57].

Sliny poskytují tekutou vrstvu mezi povrchy zubů (či restorativním materiálem) a tím snižují tření během žvýkání (snižují změnu biokompatibility vlivem opotřebení). Nicméně sliny také slouží jako pufr, rezervoár iontů a napomáhají trávení. Sliny vykazují lubrikační vlastnosti díky přítomnosti nabitých, natažených řetězců makromolekul (glykoproteiny a vysokomolekulární proteiny). Sliny mají ochrannou funkci jakožto pufr, jelikož dlouhodobé vystavení restorativního materiálu kyselým složkám slin, jako jsou kyseliny a organické tekutiny může způsobit chemickou degradaci materiálu (nejdříve ho penetrují a pak reagují se samotným materiálem). Proto se předpokládá, že enzymy ve slinách a mikrobiální enzymy mají větší vliv na biokompatibilitu materiálu než voda a ostatní látky v ústní dutině [48].

V ústní dutině se vyskytuje celá řada mikroorganismů, zejména kyselinotvorné bakterie. Vedlejším produktem těchto bakterií jsou slabé organické kyseliny, které snižují hodnotu intraorálního pH, ze zásaditého až na kyselé pH [48, 57]. Bakterie na povrchu zubních tkání (i na povrchu výplní) mohou vytvářet biofilmy, které v kontaktu se slinami, bakteriemi a potravou mohou způsobovat degradaci restorativního materiálu. Tento multidruhový biofilm může vést k sekundárním kazům nebo až k selhání zubní výplně/náhrady. Bakterie ovlivňují biokompatibilitu materiálu skrze produkci kyseliny mléčné (snížení hodnoty pH), která podporuje hydrolýzu materiálu. Tato kaskáda nezpůsobuje pouze samotnou degradaci materiálu, ale i jeho povrchové změny, které umožňují vznik dalšího biofilmu [48].

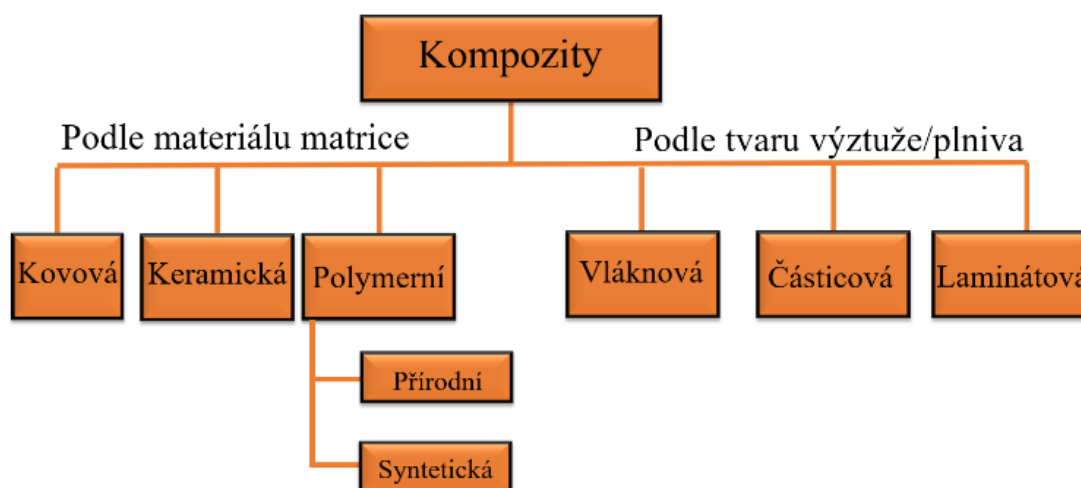
Enzymy zodpovědné za rozklad restorativního materiálu jsou přítomné v bakteriích, slinách, mineralizovaném dentinu, ale i v dentinální tekutině [48]. Přítomné endopeptidázy (matrixové metaloproteinázy a cysteinové katepsiny) jsou zodpovědné za hydrolytické odbourávání adhezivní hybridní vrstvy pod kompozitní výplní [48, 58].

Kombinací těchto synergicky působících chemických, mechanických a teplotních faktorů dochází po dlouhodobém působení ke změně vlastností materiálu a potenciálně i biokompatibility materiálu. Ta je ovlivněna interakcemi materiálu s prostředím, které je velice rozmanité a neustále se mění – množství slin, typ potravy, mikroorganismy, pH, enzymy a teplota [48].

Mezi základní typy restorativních materiálů využívané pro dentální aplikace patří kovy (slitiny), keramika, polymery, ale také **kompozitní materiály**, kterými se zabývá tato diplomová práce [56].

2.3 Kompozitní materiály ve stomatologii

Kompozitní materiály vznikají spojením alespoň dvou heterogenních složek (kovu, keramiky nebo polymeru), které mají odlišné mechanické, fyzikální a chemické vlastnosti [59, 60, 62]. Obvykle je jedna fáze spojitá (matrice) a druhá fáze nespojitá (výztuž/plnivo). V porovnání s matricí má výztuž/plnivo velmi často lepší mechanické vlastnosti (pevnost, tvrdost, modul pružnosti atd.) [59, 62]. Tyto složky jsou spojeny na mikro, mezo nebo makro úrovni, proto je výsledkem vznik materiálu s výrazně vhodnějšími a lepšími vlastnostmi (někdy i novými zcela unikátními vlastnostmi) oproti jednotlivým komponentům [60, 64]. Pro kompozity je charakteristický tzv. synergismus, což znamená, že vlastnosti výsledného materiálu jsou lepší, než by odpovídalo pouhému poměrnému sečtení vlastností jednotlivých složek [62]. I přesto, že jsou materiály spojeny v kompozit, tak si zachovávají svůj individuální charakter. Kompozity jsou vytvořeny smícháním dvou materiálů, tak aby bylo dosaženo jejich uniformního rozložení [64]. Kompozitní materiály jsou klasifikovány (viz *obrázek 4*) na základě použité matrice (kovová, polymerní nebo keramická) a podle tvaru částic použité výztuže/plniva [59, 62].



Obrázek 4: Klasifikace kompozitů; upraveno z [59]

2.3.1 Výztuž a plnivo polymerní matrice

Výztuž a plnivo tvoří 30–80 % kompozitního materiálu (podle typu zubního kompozitu, tedy respektive jeho indikace) [60]. Efekt výztuže/plniva na vlastnosti materiálů je dán typem, tvarem, velikostí a svým množstvím v matrici [65]. Podle geometrického tvaru částic zakomponovaných v polymerní matrici dělíme kompozitní materiály (viz *obrázek 5*) na částicové, vláknové (s krátkými vlákny nebo s dlouhými vlákny) a lamináty [59, 62]. Dále se obdobně rozlišují použité částice na výztuž (vlákna) a plnivo (částice), tedy podle poměru L/D (o vlákno se jedná, když $L/D > 25$) [63, 64]. U částicového plniva nepřesahuje jeden rozměr částice výrazně rozměry ostatní. Částice plniva mohou mít tvar kulovitý, destičkovitý, tyčinkovitý nebo nepravidelný. U vláknové výztuže jsou vlákna v jednom směru výrazně větší než ve směrech ostatních. Vláknové kompozity rozdělujeme podle délky vyztužujících vláken na kompozity s dlouhými vlákny (poměr $L/D > 100$) a krátkými vlákny (poměr $L/D < 100$) [62, 64]. Obecně platí, že čím je delší vlákno, tak tím je větší vyztužující efekt [66].

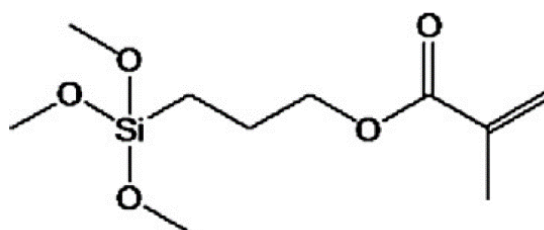


Obrázek 5: Rozdělení kompozitů podle tvaru výztuže/výplně; upraveno z [62]

Výztuž a plnivo významným způsobem ovlivňuje vlastnosti kompozitu. Čím více je přítomno výztuže a plniva, tím menší je polymerační smrštění. Odolnost proti opotřebení je vyšší při použití velkého množství menších částic. Mimo jiné výztuž a plnivo ovlivňuje hladkost povrchu, estetiku zubního kompozitu, sorpci vody, mechanické vlastnosti, teplotní roztažnost a kontrakci, jednoduchost aplikace (viskozita směsi před polymerací), radioopacitu a řadu dalších důležitých vlastností [67].

Zubní kompozity pro dentální aplikace obvykle obsahují výplň a výztuž ze dvou a více různých materiálů, aby výsledný kompozit disponoval vhodnými vlastnostmi [68]. Výhodné je použít částice o různé velikosti (distribuci), jelikož menší částice vyplní prostor mezi většími částicemi, a tak dojde k dokonalejšímu vyplnění polymerní matrice [60]. Jako výztuž jsou obvykle používána skelná vlákna skládající se z oxidu křemičitého, oxidu hlinitého, oxidu vápenatého, oxidu hořečnatého a oxidu boritého (jednotlivé typy skleněných vláken se liší svým složením, a tedy i svými vlastnostmi) [69]. Jako plniva jsou často používány částice různých tvarů a velikostí, např. z křemene, oxidu zirkoničitého, barnatého skla, či jiného keramického materiálu [68].

Nejslabší částí kompozitního materiálu je rozhraní výplně (nebo výztuže) a matrice, proto je nutné modifikovat povrch částic a vláken [68]. K zajištění dobré adheze mezi částicemi (anorganickou výztuží a výplní) a polymerní matricí jsou používány silanová vazebná činidla, čímž je zvýšena i odolnost proti opotřebení povrchu zubního kompozitu [60]. Výrobci výztuží/výplní ošetřují povrch částic/vláken organosilanem, který má funkční skupiny reagující s anorganickými částicemi (obvykle methoxy skupina), ale i s polymerní matricí (obvykle methakrylátová skupina) [56, 60]. Dvojná vazba methakrylátové skupiny vyskytující se na povrchu upravené částice následně polymeruje s monomery (polymerní matricí). Nejčastěji využívaným silanizačním činidlem pro modifikaci povrchu částic výztuže/výplně je MPTMS (3-methakryloxypropyltrimethoxysilan, viz obrázek 6) [60].

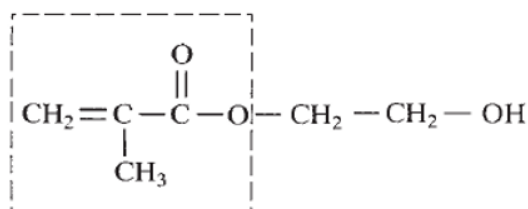


Obrázek 6: Struktura silanizačního činidla MPTMS; upraveno z [60]

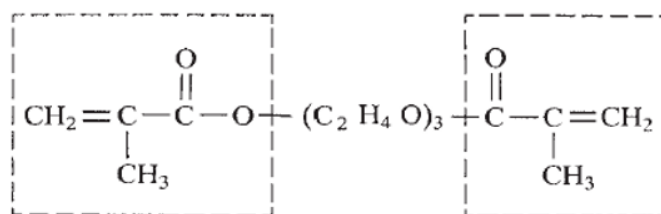
2.3.2 Polymerní matrice

Polymery jsou vysokomolekulární látky (makromolekulární řetězce), které jsou tvořeny opakujícími se nízkomolekulárními jednotkami (**monomery**), jednoho či více druhů atomů nebo skupin atomů (konstitučních jednotek), které jsou navzájem spojeny v tak velkém počtu, že přidání nebo odebrání jedné nebo několika konstitučních jednotek nezmění jejich vlastnosti [70–73]. Makromolekulární řetězce mohou být lineární, rozvětvené nebo uspořádané do **prostorové sítě**. V případě, že polymer je složen z jednoho opakujícího se monomeru, tak je označován jako homopolymer [71]. Avšak polymer, který je složen z více než jednoho opakujícího se monomeru, je označován jako kopolymer [70].

Nejpoužívanější polymerní matrice pro dentální aplikace jsou zejména na bázi akrylových pryskyřic, konkrétně monomery na bázi methakrylátů a dnes již téměř zpravidla monomery na bázi dimethakrylátů (viz *obrázek 7*), které jsou schopny tvořit vysoce zesíťnou trojrozměrnou polymerní síť s lepšími vlastnostmi [65, 74, 75].



monomer HEMA na bázi methakrylátů



monomer TEGDMA na bázi dimethakrylátů

Obrázek 7: Struktura monomeru HEMA a TEGDMA; upraveno z [65]

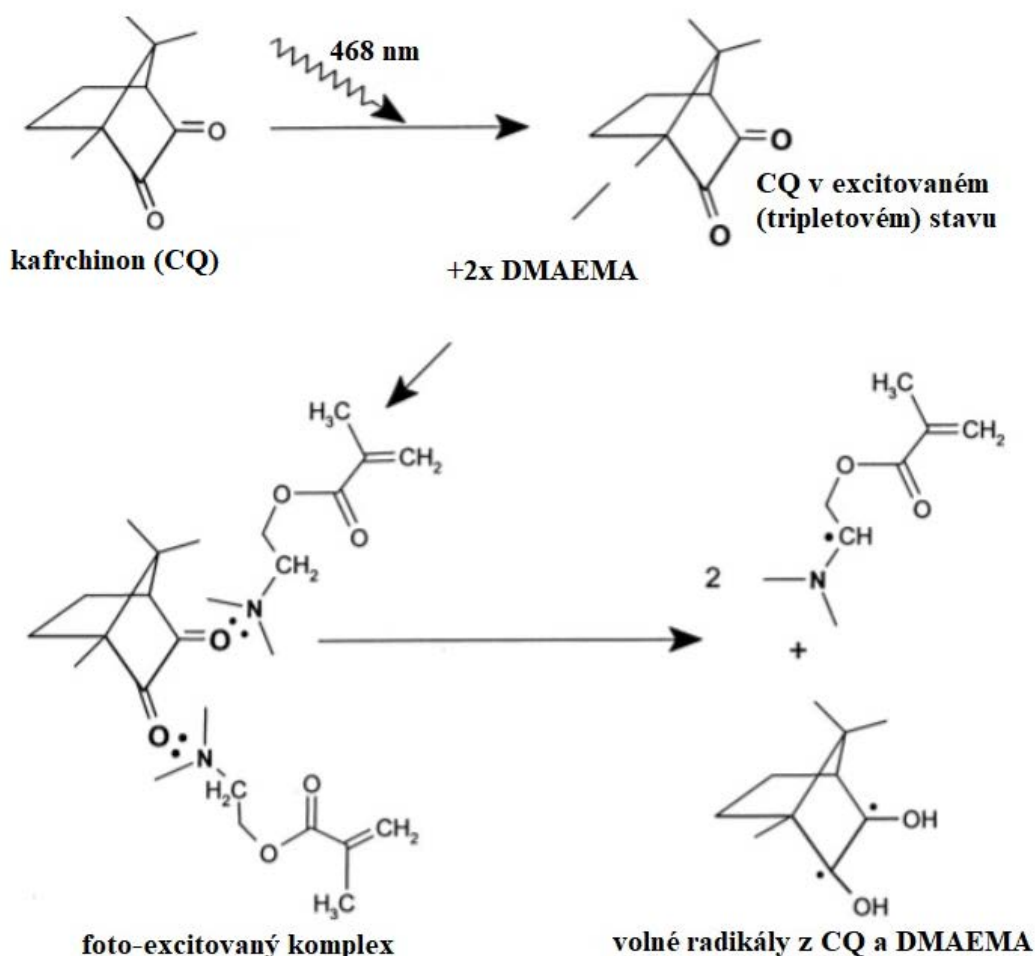
Využití nezpevněných polymerů plnivy/výztuží je velmi omezené kvůli nedostačujícím mechanickým vlastnostem. Kompozitní materiály s polymerní matricí jsou velmi populární, díky své nízké ceně a jednoduché přípravě [59]. V případě, že je polymerní struktura zesílena výztuží a plnivem, tak má vynikající vlastnosti jako je vysoká měrná pevnost, vysoká měrná tuhost, dobrá odolnost proti lomu, dobrá odolnost proti oděru, dobrá odolnost proti nárazu, dobrá odolnost proti korozi, dobrá odolnost proti únavě, ale také zejména nízká cena [59, 76].

Ačkoli je přesné složení dentálních materiálů chráněno obchodním tajemstvím., tak je obecně známo, že polymerní matrice obsahuje řadu **monomerů** (obvykle na bázi dimethakrylátů), iniciátory a akcelerátory polymerizace, ale také různé stabilizátory atd. V následujících kapitolách jsou popsány látky, které jsou součástí analyzovaných vzorků zubních kompozitů, konkrétně látky fotoiniciačního systému, inhibitor polymerizace, monomery (na bázi methakrylátů a dimethakrylátů) [77].

2.4 Fotoiniciační systém

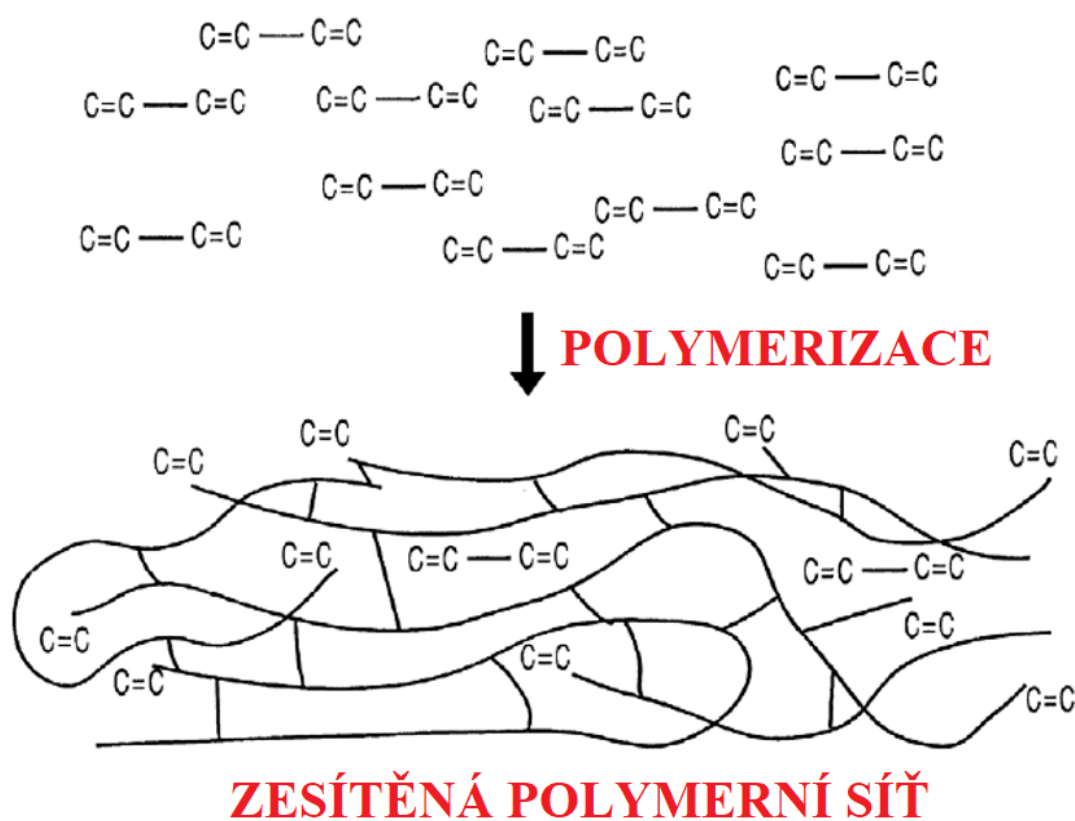
Radikálová polymerace monomerů, které tvoří zubní kompozit spolu s výztuží a plnivem je obvykle iniciována světlem [78]. V průběhu reakce dochází k vytvrzování zubních kompozitů, jelikož kapalná směs monomerů (s výztuží a plnivem) během několika desítek sekund vytvoří polymerní síť a projde fázovým přechodem kapalina–pevná látka [78, 79]. Důsledkem řetězové polymerace také dochází k rapidním změnám vlastností monomerů (vznik polymeru), jelikož dochází k prodloužení polymerního řetězce, zvýšení molární hmotnosti, ke změně mechanických vlastností, ale také k polymerizačnímu smrštění [78].

V dnešní době se používá primárně fotoiniciační systém o složení fotoiniciátor **CQ** v kombinaci s organickým alifatickým terciárním aminovým koiniciátorem **DMAEMA** [60]. Aktivace systému je způsobena modrým světlem vytvrzovací lampy o vlnové délce 465 nm, které je absorbováno fotoiniciátorem CQ. Nejdříve molekuly CQ absorbují kvantum modrého světla a následně excitované molekuly CQ vytvoří foto–excitovaný komplex s donorem jako je DMAEMA (koiniciátor). Následně dochází k rozpadu komplexu na volné radikály (viz obrázek 8), které iniciují polymerizaci. Polymerace je iniciována v momentě, kdy je vytvořeno dostatečné množství volných radikálů [80].



Obrázek 8: Mechanismus vzniku volných radikálů z CQ a DMAEMA; upraveno z [80]

Tyto volné radikály následně atakují značně reaktivní dvojnou vazbu methakrylátů (monomerů, ale i modifikovaných částic výplně/výztuže), což způsobuje růst polymerního řetězce. Po této iniciaci jsou monomery schopné reagovat s funkčními skupinami dalších monomerů (atak dalších C=C vazeb), čímž dochází k řetězové polymeraci. V průběhu reakce tedy dochází ke spojování monomerů v dlouhé polymerní řetězce, ale i k vzájemnému síťování lineárních polymerních řetězců [60, 78]. Polymerní síť je tvořena monomery na bázi methakrylátů (HEMA a koiniciátor DMAEMA) a dimethakrylátů (TEGDMA, UDMA, BisGMA a BisEMA), kde síťování je zprostředkováno monomery na bázi dimethakrylátů, jelikož mají dvě funkční skupiny (dvě dvojně vazby C=C). Nicméně i po ukončení polymerace nejsou všechny dvojně vazby monomerů zreagovány (viz *obrázek 9*), jelikož v průběhu síťování klesá flexibilita polymerní sítě, a proto nemohou všechny tyto dvojně vazby zreagovat [74].



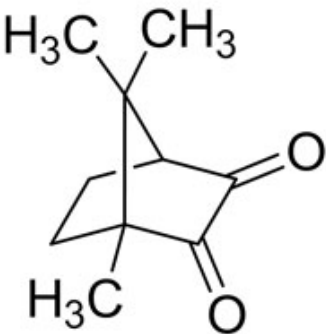
Obrázek 9: Vznik polymerní sítě; upraveno z [74]

Aby se zamezilo předčasné nežádoucí polymeraci směsi monomerů, tak je kromě fotoiniciátoru a koiniciátoru do směsi přidáván také ještě inhibitor polymerizace (antioxidant) zvaný **BHT**. Tato látka je velmi důležitá kvůli skladování a následnému transportu připravené kompozitní směsi, jelikož prodlužuje její trvanlivost před použitím [81]. V případě expozice připravené směsi zubního kompozitu světlu může dojít ke vzniku volných radikálů a v takovém případě inhibitor BHT velmi rychle reaguje se vzniklými radikály (rychleji než volné radikály s monomery) a tak zapříčiní terminaci polymerizační reakce, čímž předchází nežádoucímu vytvrzení zubního kompozitu před jeho aplikací do zubní kavity [80].

2.4.1 CQ

CQ (DL–Kafrochinon) je nejrozšířenějším komerčně dostupným fotoiniciátorem pro biomedicínské aplikace [82]. Stručný přehled obecných a chemických charakteristik CQ je zpracován v *tabulce 2*. Dle IUPAC názvu se jedná o α -diketon, který tvoří racemickou směs stereoizomerů [83, 84]. Jelikož efektivita toho fotoiniciátoru je nedostatečná, tak se používá obvykle v kombinaci s koiniciátorem DMAEMA. CQ dokáže efektivně absorbovat v UV oblasti 200–300 nm a ve viditelné oblasti má absorpční maximum okolo vlnové délky 468 nm (vytvrzovací lampy svítí modrým světlem), z čehož vyplývá žlutá barva této sytké látky [80, 82, 85].

Tabulka 2: Obecné a chemické vlastnosti CQ [86]

Fotoiniciátor CQ		
Název	1,7,7-trimethylbicyklo[2.2.1]heptan-2,3-dion	
	CAS	10373–78–1
	Molární hmotnost [g·mol ⁻¹]	166,22
	Sumární vzorec	C ₁₀ H ₁₄ O ₂
	Rozpustnost ve vodě (25 °C) [mg·ml ⁻¹]	–

Koncentrace fotoiniciátoru CQ by měla být v připravené, nevytvrzené směsi v rozmezí 0,17 až 1,03 hmot. %, kde je dosaženo optima pro fotoiniciaci polymerizační reakce [87, 88]. Množství CQ ovlivňuje také estetický vzhled výplňového materiálu, jelikož při vyšších koncentracích způsobuje nažloutlé zbarvení materiálu. Jelikož je CQ pouze fotoiniciátor a nestává se tedy součástí polymerní sítě, tak nadbytek CQ nebo jeho degradační produkty mohou být uvolněny z vytvrzeného kompozitu a mít negativní účinek na lidské zdraví [87, 89]. Možnost eluce fotoiniciátoru CQ byla dokázána extrakčními pokusy do různých médií v řadě vědeckých studiích [90].

2.4.1.1 Toxicita CQ

Ozářené, ale i neozářené molekuly CQ způsobují inhibici proliferaci buněk a produkci reaktivních forem kyslíku (ROS), čímž může dojít k poškození DNA nebo k poškození buněčné membrány peroxidací lipidů [89, 91]. Dále tyto radikály mohou způsobit zpomalení/zastavení buněčného cyklu nebo dokonce apoptózu buněk zubní dřene [88]. Několik studií se shoduje na tom, že toxicita CQ je spojována především s produkcí volných radikálů [89]. Již malé koncentrace CQ mohou mít cytotoxické a genotoxické účinky, nicméně množství vědeckých studií na toxicitu CQ je značně omezené, jelikož většina studií se soustředí právě na monomery uvolněné ze zubních kompozitů [88, 92]. Podle dostupných toxikologických dat pro CQ je LD₅₀ pro krysy při orálním požití 2 000 mg/kg [93].

2.4.1.2 CQ v hmotnostní spektrometrii

Fotoiniciátor CQ má 2 stereoizomery a několik degradačních produktů, které je možné podle dostupné odborné literatury analyzovat prostřednictvím LC-MS (viz *tabulka 3*) [19, 94]. Ze zubních kompozitních materiálu může kromě CQ docházet také k eluci jeho degradačních produktů, a to konkrétně CSA a HC¹/₂. CSA pravděpodobně vzniká reakcí CQ se stopovým množstvím kyslíku a produkt HC¹/₂ je hydroxylovaný CQ [19, 95].

Tabulka 3: CQ v hmotnostní spektrometrii [94–97]

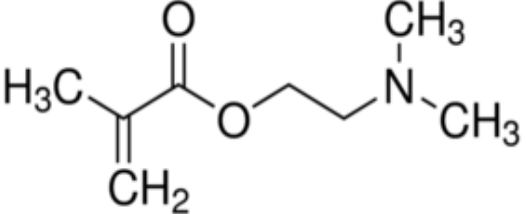
Zkratka	Název	Původ	Sumární vzorec	Mw [–]	m/z v MS	m/z v MS/MS	zdroj
CQ	(+,-)kafarchinon	STD ¹	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	166,22	167	139; 95; 83; 69	[96, 97]
CSA	anhydrid kyseliny kafrové	DP	C ₁₀ H ₁₄ O ₃	182,22	–	–	[94]
HC ¹ / ₂	2(3) –endo–hydroxy(+,-)epikafr	DP	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	168,23	–	–	[94]

¹ zkratka STD označuje, že se jedná o analyt ve standardu; zkratka DP označuje degradační produkt

2.4.2 DMAEMA

Koiniciátor DMAEMA patří mezi alifatické terciární aminy a na rozdíl od fotoiniciátoru neabsorbuje světlo, ale pouze interaguje s CQ za vytvoření volných radikálů, čímž iniciuje velmi rychle a efektivně řetězovou polymerizaci [98–100]. DMAEMA má methakrylátovou skupinu, která stojí za jeho vyšší biokompatibilitou, jelikož může kopolymerizovat s monomery na bázi methakrylátů (ve formě polymeru je biokompatibilní) [99, 101]. Stručný přehled obecných a chemických charakteristik DMAEMA je zpracován v *tabulce 4*. Koiniciátor DMAEMA se obvykle používá s CQ v poměru 4:1 nebo častěji 2:1 (DMAEMA/CQ), kdy je dosaženo optimálního stupně přeměny dvojných vazeb monomerů. Při použití nižšího množství DMAEMA nedochází k efektivní produkci volných radikálů, jelikož je mnohem menší pravděpodobnost vzniku potřebného foto-excitovaného komplexu [102, 103]. Naopak vyšší množství DMAEMA způsobuje tmavé odstíny (červenohnědé odstíny) zubních výplní [104, 105]. I přesto, že DMAEMA má methakrylátovou skupinu, která omezuje jeho možnost uvolnění ze zubního kompozitu, tak se u něj vyskytují také obavy ohledně jeho toxicity a mutagenity při vyloučení ze zubního kompozitu [105, 106].

Tabulka 4: Obecné a chemické vlastnosti DMAEMA [107, 108]

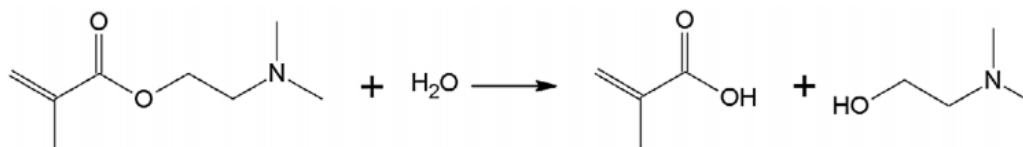
Koiniciátor DMAEMA		
Název	2–(dimethylamino)ethyl methakrylát	
	CAS	2867–47–2
	Molární hmotnost [g·mol ⁻¹]	157,21
	Sumární vzorec	C ₈ H ₁₅ NO ₂
	Rozpustnost ve vodě (20 °C) [mg·ml ⁻¹]	1 000
	Dynamická viskozita (20 °C) [mPa·s]	1,32

2.4.2.1 Toxicita DMAEMA

Studie ukazují, že DMAEMA, tak jako ostatní složky zubních výplní (zejména monomery) je bioaktivní. Po svém uvolnění ze zubního kompozitu je schopno negativně ovlivňovat buněčné procesy, včetně těch v ústí dutině [109]. Nezareagované aminy mohou být potenciálně škodlivé, jelikož po ozáření fotoiniciátoru dochází postupně až ke vzniku volných radikálů, které atakují nejen dvojně vazby monomerů, ale mohou atakovat i dvojně vazby nenasycených mastných kyselin a fosfolipidů živých organismů, čímž dochází k poškození membrán erytrocytů, lysozomů nebo mitochondrií [110, 111]. Dále může negativně ovlivňovat syntézu RNA a proteinů, ale také celulární metabolismus lipidů a celou řadu dalších dějů [109]. Podle dostupných toxikologických dat pro DMAEMA je LD₅₀ pro krysy při orálním požití 1 751 mg/kg a při dermální expozici > 2 000 mg/kg [107, 108].

2.4.2.2 DMAEMA v hmotnostní spektrometrii

Koiniciátor DMAEMA, jeho dimery či oligomery (homo– i hetero–) a několik jeho degradačních produktů je možné podle dostupné odborné literatury analyzovat prostřednictvím LC-MS (viz *tabulka 5*) [99]. DMAEMA může být v prostředí ústní dutiny také hydrolyzována (v přítomnosti vody nebo esteráz či jiných enzymů) na DME a MAA [109]. Stabilita DMAEMA je tedy dosud nevyřešeným problémem, jelikož ve vodném prostředí dochází k jeho degradaci (viz *obrázek 10*) [101]. V důsledku hydrolyzy tedy vzniká MAA, která snižuje pH, a může tak ovlivnit reakční kinetiku ostatních degradačních reakcí, ať již negativně či pozitivně [112]. Dalším potenciálním degradačním produktem vznikajícím v důsledku hydrolyzy je MMA [94]. Reakcí dvou MMA může vznikat MMHM [113]. Studie také dokazují, že oxidací methakrylátů může docházet ke vzniku formaldehydu. Nicméně MAA, MMA a MMHM mohou být také přítomny jakožto nečistoty ze syntézy monomerů [94, 113–115].



Obrázek 10: Hydrolyza DMAEMA za vzniku DME a MAA; upraveno z [112]

Tabulka 5: DMAEMA v hmotnostní spektrometrii [97, 109, 113–116]

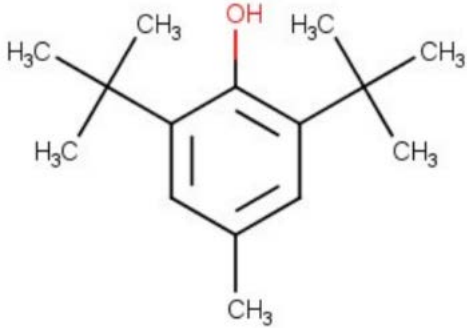
Zkratka	Název	Původ	Sumární vzorec	Mw [–]	m/z v MS	m/z v MS/MS	zdroj
DMAEMA	2–(dimethylamino)ethyl methakrylát	STD ²	C ₈ H ₁₅ NO ₂	157,21	–	71; 58	[97]
DME	N,N–dimethylethanolamin	DP	C ₄ H ₁₁ NO	89,14	–	–	[109]
MAA	kyselina methakrylová	DP	C ₄ H ₆ O ₂	86,09	–	–	[116]
MMA	methyl–methakrylát	DP	C ₅ H ₈ O ₂	100,12	118,2	59,1; 58,1	[113]
MMHM	methylester kyseliny 2–methyl–5–methylen–hexadekanové	DP	C ₁₀ H ₁₆ O ₄	200,23	218,1	106,0; 88,0; 57,1	[113]
–	formaldehyd	DP	CH ₂ O	30,03	–	–	[114, 115]

² zkratka STD označuje, že se jedná o analyt ve standardu; zkratka DP označuje degradační produkt

2.4.3 BHT

BHT patří především mezi potravinové doplňky, ale je často také využíván jako inhibitor polymerizace v zubních kompozitech, a to kvůli jeho antioxidačním vlastnostem, které prodlužují dobu skladovatelnosti, ale také usnadňují zubařům aplikaci zubní výplně oddálením vytvrzení kompozitu. Jelikož jsou volné radikály předčasně terminovány molekulami BHT, tak je kinetika polymerizace zpomalena, dokud není inhibitor spotřebován [117–119]. Stručný přehled obecných a chemických charakteristik BHT je zpracován v *tabulce 6*. Nicméně podle studií dochází i k eluci BHT z kompozitního materiálu a může být dokonce potenciálně toxické [19].

Tabulka 6: Obecné a chemické vlastnosti BHT [120]

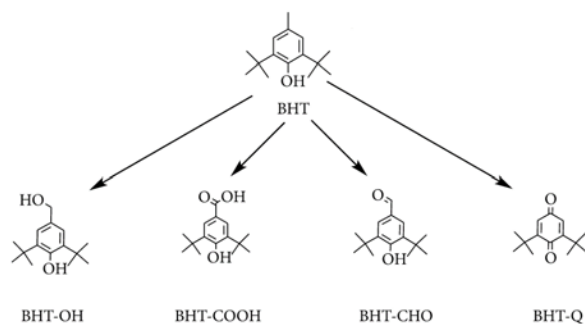
Antioxidant BHT			
Název	butylhydroxytoluen		
	CAS	128–37–0	
	Molární hmotnost [g·mol ⁻¹]	220,35	
	Sumární vzorec	C ₁₅ H ₂₄ O	
	Rozpustnost ve vodě (20 °C) [mg·L ⁻¹]	0,4	

2.4.3.1 Toxicita BHT

Během několika posledních let byla intenzivně studována biologická aktivita BHT. Molekuly tohoto antioxidantu jsou schopné akumulace v tělním tuku. BHT může mít hepatotoxický, cytotoxický nebo i karcinogenní účinek. Mimo jiné může narušit hormonální rovnováhu v těle (nebo dokonce způsobit reprodukční toxicitu [118, 121]. Podle dostupných toxikologických dat pro BHT je LD₅₀ pro myši při orálním požití 650 mg/kg a LD₅₀ pro krysy při orálním požití 2 930 mg/kg [122, 123].

2.4.3.2 BHT v hmotnostní spektrometrii

Kromě syntetického fenolického antioxidantu BHT je prostřednictvím LC-MS možné analyzovat i jeho degradační produkty (viz *tabulka 7*), které jsou také uvolňovány ze zubních kompozitů. Studie uvádějí, že mohou vznikat následující potenciálně toxické degradační produkty: BHT-CHO, BHT-COOH, BHT-Q, BHT-OH a BHM [113, 118]. BHM se vyskytuje ve standardu BHT jakožto nečistota, nebo může docházet k jeho vzniku reakcí BHT s MMA. Degradační mechanismus BHT, respektive vznik jeho degradačních produktů je znázorněn na *obrázku 11* [113, 124].



Obrázek 11: Degradační mechanismus BHT; upraveno z [124]

Tabulka 7: BHT v hmotnostní spektrometrii [97, 113, 118, 125]

Zkratka	Název	Původ	Sumární vzorec	Mw [–]	m/z v MS	m/z v MS/MS	zdroj
BHT	2,6-di-terc-butyl-4-methylfenol	STD ³	C ₁₅ H ₂₄ O	220,18	219	205; 57	[97, 118, 125]
BHT-CHO	3,5-di-terc-butyl-4-hydroxybenzldehyd	DP	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	234,16	–	233; 217	[118]
BHT-COOH	3,5-di-terc-butyl-4-hydroxybenzoová kyselina	DP	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	250,17	–	249; 205	[118]
BHT-Q	2,6-di-terc-butylcyklohexa-2,5-dien-1,4-dion	DP	C ₁₄ H ₂₀ O ₂	220,15	–	–	[118]
BHT-OH	2,6-di-terc-butyl-4-(hydroxyethyl)fenol	DP	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	236,18	–	235; 205	[118]
BHM	methylester kyseliny 3,5-di-terc-butyl-4-hydroxybenzoové	DP	C ₁₆ H ₂₄ O ₃	264,36	282,2	265,2; 247,2; 179,1; 161,1	[113]

³ zkratka STD označuje, že se jedná o analyt ve standardu; zkratka DP označuje degradační produkt

2.5 Monomer HEMA

Monomer HEMA je nízkomolekulární, hydrofilní a monofunkční monomer, který patří mezi nejpoužívanější monomery pro zubní kompozity [126, 127]. Stručný přehled obecných a chemických charakteristik monomeru HEMA je zpracován v *tabulce 8*. Tento monomer vykazuje chování kosolventu, jelikož zvyšuje mísitelnost hydrofobních a hydrofilních složek, čímž dojde k vytvoření homogenní směsi (zároveň snižuje viskozitu směsi) [126–128]. Jelikož se jedná o monofunkční monomer, tak není schopen tvořit zesíťovanou polymerní strukturu (na rozdíl od monomerů na bázi dimethakrylátů). Monomer HEMA je hydrofilního charakteru kvůli přítomnosti hydroxylové skupiny, mimo jiné také snadno absorbuje vodu, čímž se snižují jeho mechanické vlastnosti a dochází snadněji v ústní dutině k degradaci jeho polymerní matrice [126, 128]. Nicméně i přes značný alergenní potenciál monomeru, dochází jeho polymerizací ke vzniku biokompatibilního polymeru [127]. Avšak i přesto vědecké studie ukazují, že dochází k uvolňování monomeru z kompozitního materiálu, čímž je ohrožena biokompatibilita takového dentálního materiálu [100].

Tabulka 8: Obecné a chemické vlastnosti HEMA [129]

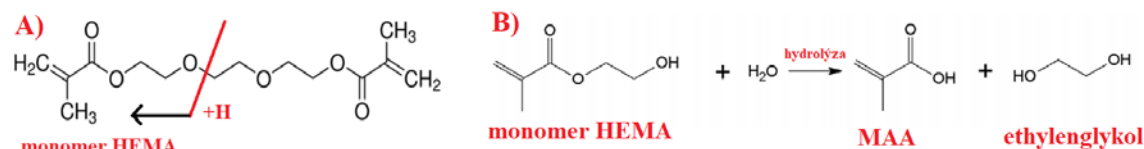
Monomer HEMA		
Název	2-hydroxyethyl-2-methakrylát	
$\left[\text{CH}_2 - \underset{\begin{array}{c} \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{O} \\ \\ \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH} \end{array}}{\overset{\text{CH}_3}{\text{C}}} \right]_n$	CAS	868–77–9
	Molární hmotnost [g·mol ⁻¹]	130,14
	Sumární vzorec	C ₆ H ₁₀ O ₃
	Rozpustnost ve vodě (20 °C) [mg·ml ⁻¹]	100
	Dynamická viskozita (20 °C) [mPa·s]	6

2.5.1 Toxicita HEMA

Jelikož se jedná o nízkomolekulární monomer, tak je schopný difuze přes dentinové tubuly a následně indukce apoptózy nebo zánětu dřeňových buněk, mimo jiné dokáže penetrovat přes rukavice i kůži, čímž může vyvolat u zubařů kontaktní dermatitidu [127, 128]. Monomer se také může uvolnit do slin, a tak se dostat až do gastrointestinálního traktu. Subtoxické koncentrace monomeru mohou indukovat produkci interleukinu, ovlivnit intracelulární detoxikační mechanismy, zabránit diferenciaci buněk na odontoblasty nebo jinak ovlivnit fungování buňky, aniž by došlo k jejímu zániku [130, 131]. Kromě cytotoxického účinku se vyskytují i obavy o jeho genotoxicitu (riziko poškození DNA, vzniku mutací, narušení buněčného cyklu atd.) [132]. Podle dostupných toxikologických dat pro monomer HEMA je LD₅₀ pro krysy při orálním požití 1 600 mg/kg a při dermálním expozici 3 000 mg/kg [133, 134]. Existuje zde i riziko vzniku degradačních produktů, které jsou velmi toxické [130]. Nicméně obavy představuje zejména dlouhodobá expozice monomeru HEMA i přes jeho nízké množství [131].

2.5.2 HEMA v hmotnostní spektrometrii

Monomer HEMA, včetně jeho různých oligomerů a několika degradačních produktů je možné podle dostupné odborné literatury analyzovat prostřednictvím LC-MS (viz *tabulka 9*) [100, 135]. Uvolněný monomer může být ve formě nezreagovaného rezidua po polymerizaci, nebo vznikat degradací polymerní matrice, nebo také může vznikat degradací jiných monomerů, jako je např. UDMA nebo TEGDMA (viz *obrázek 12*) [100, 132, 135, 136].



Obrázek 12: A) Vznik monomeru HEMA degradací monomeru TEGDMA [135], B) Hydrolyza monomeru HEMA za vzniku MAA a ethylenglykolu [112]

Jelikož je monomer HEMA ester (jako všechny ostatní zmíněné monomery na bázi methakrylátů), tak může docházet k jejich hydrolyze v ústní dutině (hydrolyza může být katalyzována kyselým nebo zásaditým prostředím nebo i účinkem enzymů) [132, 137, 138]. Hydrolyzou monomeru HEMA vzniká MAA a ethylenglykol (viz *obrázek B*). V průběhu této degradace dochází ke snížení pH (vznik MAA), což může ovlivnit reakční kinetiku i ostatních degradačních reakcí [112]. Dalším potenciálním degradačním produktem vznikajícím v důsledku hydrolyzy je MMA. Reakcí dvou MMA může vznikat MMHM. Studie také dokazují, že oxidací methakrylátů může docházet ke vzniku formaldehydu. Nicméně MAA, MMA a MMHM mohou být také přítomny jakožto nečistoty ze syntézy monomerů. Degradační produkty: MAA, MMA, MMHM a formaldehyd jsou společné pro všechny zmíněné monomery na bázi methakrylátů (tedy HEMA, TEGDMA, UDMA, BisGMA a BisEMA) [94, 114–116].

Tabulka 9: HEMA v hmotnostní spektrometrii [96, 97, 113–116]

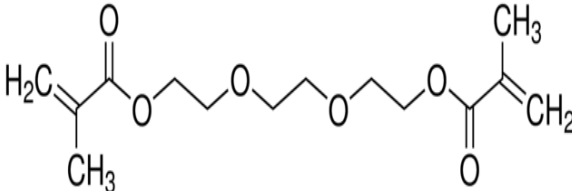
Zkratka	Název	Původ	Sumární vzorec	Mw [–]	m/z v MS	m/z v MS/MS	zdroj
HEMA	2–hydroxyethyl methakrylát	STD ⁴	C ₆ H ₁₀ O ₃	130,14	130,8; 153	87; 69,0	[96, 97]
MAA	kyselina methakrylová	DP	C ₄ H ₆ O ₂	86,09	–	–	[116]
MMA	methyl–methakrylát	DP	C ₅ H ₈ O ₂	100,12	118,2	59,1; 58,1	[113]
MMHM	methylester kyseliny 2–methyl–5–methylen–hexadekanové	DP	C ₁₀ H ₁₆ O ₄	200,23	218,1	106,0; 88,0; 57,1	[113]
–	formaldehyd	DP	CH ₂ O	30,03	–	–	[114, 115]

⁴ zkratka STD označuje, že se jedná o analyt ve standardu; zkratka DP označuje degradační produkt

2.6 Monomer TEGDMA

TEGDMA je difunkční monomer na bázi dimethakrylátů, který je schopen vytvořit zesíťnou polymerní matici, která je díky tomuto zesíťení odolnější vůči působení rozpouštědel [60, 67, 139]. Jedná se o nízkomolekulární, hydrofilní a nízkoviskózní monomer, který se do směsi monomerů přidává, aby usnadnil manipulaci při aplikaci zubní výplně (díky nižší viskozitě). Zároveň zvyšuje možnost začlenění částic výplně/výztuže a mimo jiné také zvyšuje stupeň přeměny dvojných vazeb, což naopak zvyšuje polymerizační smrštění [67, 140, 141]. Vysokého stupně přeměny dvojných vazeb je dosaženo, jelikož dlouhý řetězec monomeru TEGDMA je velmi flexibilní [142]. Snížení viskozity prostřednictvím monomeru TEGDMA má i nežádoucí vlivy jako je zvýšená sorpce vody a vyšší polymerizační smrštění. Nicméně tyto nežádoucí vlivy je možné vykompenzovat ostatními monomery, proto je nutné použít vhodný poměr těchto monomerů pro vytvoření zubního kompozitu s vhodnými vlastnostmi [67, 143]. Stručný přehled obecných a chemických charakteristik TEGDMA je zpracován v *tabulce 10*. Vědecké studie ukazují, že monomer TEGDMA je uvolňován ze zpolymerizovaného materiálu a vykazuje škodlivé účinky, tak jako ostatní monomery na bázi methakrylátů [144].

Tabulka 10: Obecné a chemické vlastnosti TEGDMA [145, 146]

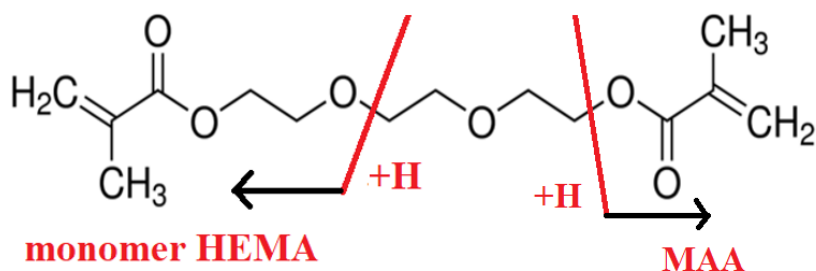
Monomer TEGDMA		
Název	triethylenglykol dimethakrylát	
	CAS	109–16–0
	Molární hmotnost [g·mol ⁻¹]	286,32
	Sumární vzorec	C ₁₄ H ₂₂ O ₆
	Rozpustnost ve vodě (20 °C) [mg·ml ⁻¹]	3,6
	Dynamická viskozita (22 °C) [mPa·s]	10

2.6.1 Toxicita monomeru TEGDMA

Relativně hydrofilní a nízkomolekulární monomer TEGDMA (tak jako monomer HEMA) může difundovat do okolních tkání, jako je například zubní dřevina nebo může být uvolněn do slin a dostat se následně až do gastrointestinálního traktu [130, 147]. Monomer TEGDMA je schopen interagovat s buněčnými strukturami, procházet buněčnými membránami nebo ovlivňovat buněčné procesy (např. inhibice buněčného růstu nebo ovlivnění nitro-buněčné hladiny glutathionu) [18, 147]. I v subtoxických koncentracích uvolněných ze zubního kompozitu může TEGDMA ovlivnit buněčné pochody, aniž by buňku usmrtila [130]. TEGDMA je mutagenní (delece úseku DNA), ale i značně cytotoxická oproti ostatním monomerům [18, 147]. Podle dostupných toxikologických dat pro monomer TEGDMA je LD₅₀ pro krysy při orálním požití 10 837 mg/kg [148].

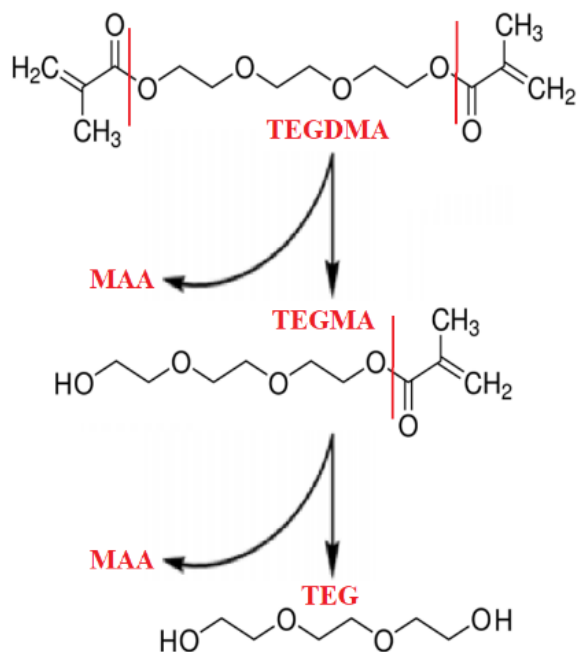
2.6.2 Degradací produkty TEGDMA

Monomer **TEGDMA**, včetně jeho oligomerů a několika degradačních produktů je možné podle dostupné odborné literatury analyzovat prostřednictvím LC-MS (viz *tabulka 11*) [144]. Hydrolytickou degradací monomeru TEGDMA může vznikat monomer HEMA (viz *obrázek 13*) [135, 138].



Obrázek 13: Degradace monomeru TEGDMA; upraveno z [135]

Hydrolýzou jedné z esterových vazeb monomeru TEGDMA vzniká MAA a degradační produkt **TEGMA**, který může být dále hydrolyzován za vzniku **TEG** a **MAA** (viz *obrázek 14*). Dalšími degradačními produkty TEGDMA jsou MAA, **MMA**, **MMHM** a **formaldehyd** (viz kapitola 2.5) [94, 114–116, 149].



Obrázek 14: Hydrolýza monomeru TEGDMA; upraveno z [138]

Kromě monomeru TEGDMA se mohou ze zubních kompozitů uvolnit i další monomery na bázi dimethakrylátů s odlišným počtem ethylenglykolů jakožto jádrem a to **DEGDMA**, **TEEGDMA**, **PEGDMA** anebo **HEGDMA**. Další identifikovanou podobnou látkou monomeru TEGDMA je **TEGMAA**, která má ve své struktuře triethylenglykol jakožto jádro mezi methakrylovou a akrylovou funkční skupinu [113].

Tabulka 11: TEGDMA v hmotnostní spektrometrii [94, 96, 97, 113–116, 150, 151]

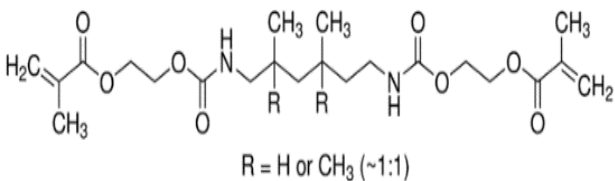
Zkratka	Název	Původ	Sumární vzorec	Mw [–]	m/z v MS	m/z v MS/MS	zdroj
TEGDMA	triethylenglykol dimethakrylát	STD ⁵	C ₁₄ H ₂₂ O ₆	286,32	287; 304; 309	113,1; 69,0	[113, 150, 151]
HEMA	2–hydroxyethyl methakrylát	DP	C ₆ H ₁₀ O ₃	130,14	130,8; 153	87; 69,0	[96, 97]
TEGMA	triethylenglykol monomethakrylát	DP	C ₁₀ H ₁₈ O ₅	218,25	236,1	219,1; 133,1; 113,1; 89,1; 69,1	[94, 113]
TEG	triethylengkol	DP	C ₆ H ₁₄ O ₄	150,17	151,1	89,1	[113]
MAA	kyselina methakrylová	DP	C ₄ H ₆ O ₂	86,09	–	–	[116]
MMA	methyl–methakrylát	DP	C ₅ H ₈ O ₂	100,12	118,2	59,1; 58,1	[113]
MMHM	methylester kyseliny 2–methyl–5– methylen–hexadekanové	DP	C ₁₀ H ₁₆ O ₄	200,23	218,1	106,0; 88,0; 57,1	[113]
	formaldehyd	DP	CH ₂ O	30,03	–	–	[114, 115]
DEGDMA	diethylenglykol dimethakrylát	Imp	C ₁₂ H ₁₈ O ₅	242,27	243,1	113,1; 55,0	[113]
TEEGDMA	tetraethylenglykol dimethakrylát	Imp	C ₁₆ H ₂₆ O ₇	330,37	348,2	331,2; 245,1; 157,1; 113,1; 81,1; 69,0	[113]
PEGDMA	pentaethylenglykol dimethakrylát	Imp	C ₁₈ H ₃₀ O ₈	374,42	392,2	375,2; 245,1; 201,1; 157,1; 113,1; 69,0	[113]
HEGDMA	hexaethylenglykol dimethakrylát	Imp	C ₂₀ H ₃₄ O ₉	418,48	436,3	419,2; 289,2; 245,1; 201,1; 157,1; 113,1; 69,0	[113]
TEGMAA		Imp/DP	C ₁₃ H ₂₀ O ₆	272,29	290,2	273,1; 113,1; 99,0 ; 69,0; 55,0	[113]

⁵ zkratka STD označuje, že se jedná o analyt ve standardu; zkratka DP označuje degradační produkt; zkratka Imp označuje nečistotu ze syntézy

2.7 Monomer UDMA

Monomer UDMA je difunkční monomer na bázi dimethakrylátů, který je schopen vytvořit zesíťnou polymerní matici [152, 153]. UDMA je velmi flexibilní lineární urethanový monomer (bez aromatického fenolu oproti BisGMA a BisEMA) hydrofobního charakteru, o středně vysoké molekulární hmotnosti (srovnatelná s monomerem BisGMA), relativně viskózního charakteru (8 000 mPa·s), ale značně nižší viskozitě než monomer BisGMA (566,1 Pa·s) [20, 154, 155]. Nevýhodou monomeru je relativně vysoké polymerizační smrštění oproti monomeru, jako je HEMA [152]. Stručný přehled obecných a chemických charakteristik UDMA je zpracován v tabulce 12, kde jsou taktéž zobrazeny oba strukturní izomery monomeru UDMA. Při expozici orálním tekutinám může docházet k hydrolyze polymeru nebo k eluci nezreagovaných monomerů nebo i nízkomolekulárních oligomerů [156]. Takto uvolněné monomery mohou mít negativní vliv na lidské zdraví [157].

Tabulka 12: Obecné a chemické vlastnosti UDMA [158]

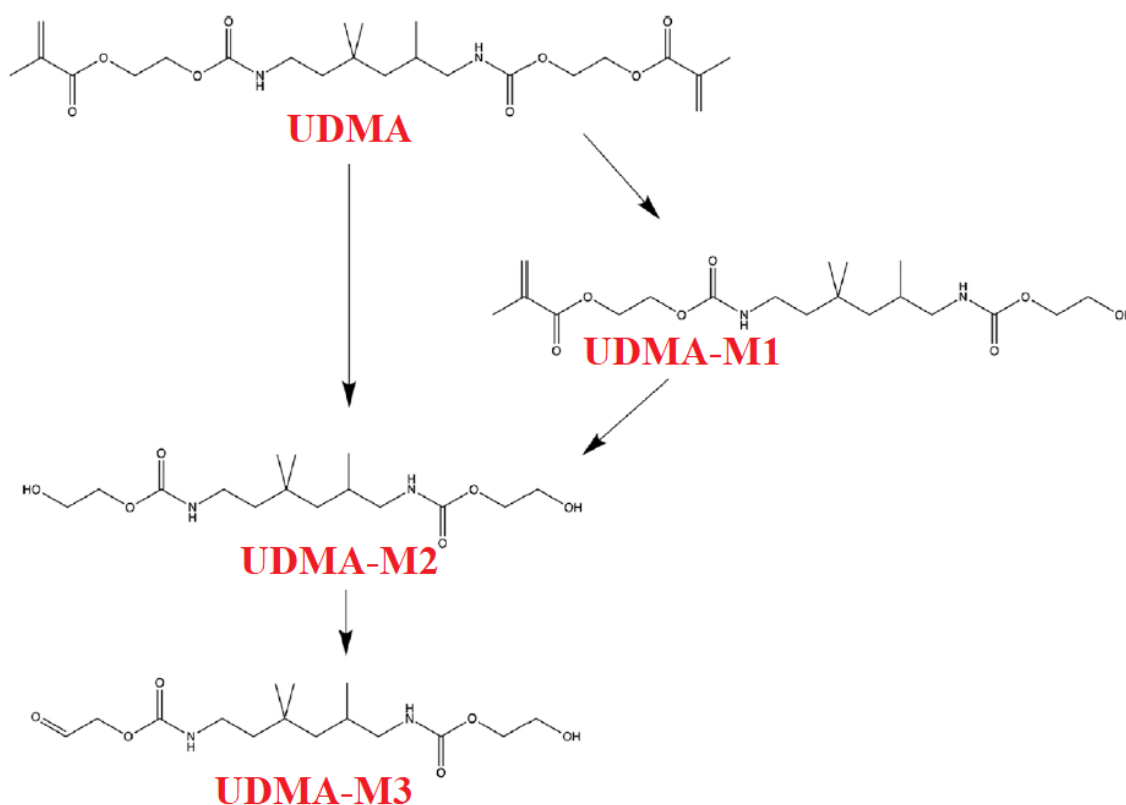
Monomer UDMA		
Název	Urethan dimethakrylát	
	CAS	72869–86–4
	Molární hmotnost [g·mol ⁻¹]	470,55642
	Sumární vzorec	C ₂₃ H ₃₈ N ₂ O ₈
	Rozpustnost ve vodě (20 °C) [mg·ml ⁻¹]	11
	Dynamická viskozita (25 °C) [mPa·s]	8 000

2.7.1 Toxicita monomeru UDMA

Po uvolnění ze zubního kompozitu může monomer UDMA působit cytotoxicky, tak jako ostatní monomery [159]. Některé vědecké studie uvádí, že monomer UDMA je nejméně toxický monomer (oproti TEGDMA, UDMA, ...) [160]. Naopak ale některé studie uvádějí určitou korelaci mezi molekulární hmotností monomeru a jeho toxicitou (MMA<HEMA<TEGDMA<UDMA<BisGMA) [161, 162]. Čím vyšší je molekulární hmotnost, tak tím vyšší je cytotoxicita. Nicméně studie se shodují na tom, že při vyšších koncentracích je UDMA cytotoxická. Podle dostupných toxikologických dat pro monomer UDMA je LD₅₀ pro krysy při orálním požití v rozmezí 2 000 až 5 000 mg/kg. Avšak polymerní matrice obsahující monomery UDMA může podléhat hydrolytické degradaci a poté může docházet k uvolnění degradačních produktů, které mohou způsobit řadu cytotoxických a genotoxických efektů na lidské buňky [158, 161].

2.7.2 Degradací produkty UDMA

Monomer **UDMA** (i jeho izomer **UDMA 2**), včetně jeho oligomerů a několika degradačních produktů je možné podle dostupné odborné literatury analyzovat prostřednictvím LC-MS [113]. Nicméně podle dostupné literatury existují 2 odlišné monomery UDMA (různé Mw, viz *tabulka 13*), proto je vhodné využívat ke kvantifikaci monomeru UDMA oba tyto standardy [150]. Nicméně hydrolyzou monomeru **UDMA 1** může vznikat také monomer HEMA [136]. Avšak primární degradační produkty vznikají následovně: monomer **UDMA 1** může účinkem enzymů degradovat (viz *obrázek 15*) hydrolyticky odštěpením jedné **MAA** na **UDMA-M1**. UDMA nebo UDMA-M1 můžou degradovat hydrolyticky odštěpením dvou nebo zbývajících jedné **MAA** na **UDMA-M2** (obě **MAA** jsou odštěpeny z původního monomeru UDMA). Z degradačního produktu následně může vznikat oxidací degradační produkt **UDMA-M3** (aldehyd). I přesto, že esterové vazby methakrylátů jsou snadno hydrolyzovatelné, tak toto není případ karbamátových esterů (urethanů), u nichž nebyly zjištěny degradační produkty [116].



Obrázek 15: Degradace monomeru UDMA; upraveno z [116]

Dalšími degradačními produkty UDMA jsou MAA, MMA, MMHM a **formaldehydu** (viz kapitola 2.5) [94, 114–116].

Tabulka 13: UDMA v hmotnostní spektrometrii [96, 97, 113–116, 150, 151, 163]

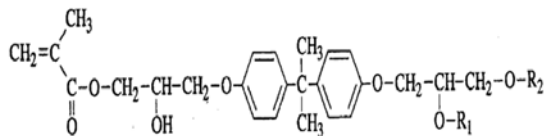
Zkratka	Název	Původ	Sumární vzorec	Mw [–]	m/z v MS	m/z v MS/MS	zdroj
UDMA 1	uretan dimethakrylát	STD ⁶	C ₂₃ H ₃₈ N ₂ O ₈	470,55	471; 488; 493	449; 407; 385,2; 341; 255,2; 241,2; 113,1; 69,0	[113, 116, 150, 163]
UDMA 2	uretan dimethakrylát – produkt	STD	C ₂₆ H ₄₂ O ₈ N ₂	498,0	499/521,3	435,2; 126,9	[150, 151]
HEMA	2–hydroxyethyl methakrylát	DP	C ₆ H ₁₀ O ₃	130,14	130,8; 153	87; 69,0	[96, 97]
UDMA–M1		DP	C ₁₉ H ₃₄ N ₂ O ₇	402,48	403,5; 420,5; 425,5	341,2; 273,2; 255,2; 168,1; 113,1; 69,0	[116, 163]
UDMA–M2		DP	C ₁₅ H ₃₀ N ₂ O ₆	334,41	335,4; 352,4; 357,4	317,2; 273,2; 255,2; 229,2; 211,1; 168,1	[116, 163]
UDMA–M3		DP	C ₁₅ H ₂₈ N ₂ O ₆	332,39	333,4; 355,4	–	[116]
MAA	kyselina methakrylová	DP	C ₄ H ₆ O ₂	86,09	–	–	[116]
MMA	methyl–methakrylát	DP	C ₅ H ₈ O ₂	100,12	118,2	59,1; 58,1	[113]
MMHM	methylester kyseliny 2–methyl–5–methylen–hexadekanové	DP	C ₁₀ H ₁₆ O ₄	200,23	218,1	106,0; 88,0; 57,1	[113]
	formaldehyd	DP	CH ₂ O	30,03	–	–	[114, 115]

⁶ zkratka STD označuje, že se jedná o analyt ve standardu; zkratka DP označuje degradační produkt

2.8 Monomer BisGMA

Monomer BisGMA je odvozený od bisfenolu A a má tedy rigidní chemickou strukturu hydrofobního charakteru s dobrými mechanickými vlastnostmi a nízkým polymeračním smrštěním (nízká konverze dvojných vazeb). BisGMA je velmi viskózní (566,1 Pa·s), proto se používá obvykle v kombinaci s nízko-viskózními monomery jako je TEGDMA), aby bylo dosaženo vhodných vlastností pro dentální aplikace [128, 164, 165]. BisGMA je vysokomolekulární, difunkční monomer (umožňuje vznik trojrozměrné polymerní sítě) a má dva strukturní izomery jedná se tedy komerčně o směs těchto izomerů. Stručný přehled obecných a chemických charakteristik BisGMA je zpracován v *tabulka 14*. I u monomeru BisGMA dochází k difuzi jeho nezreagovaných monomerů z polymerní matrice zubního kompozitu, ale i k degradaci polymerní matrice [116, 128, 160].

Tabulka 14: Obecné a chemické vlastnosti BisGMA [145]

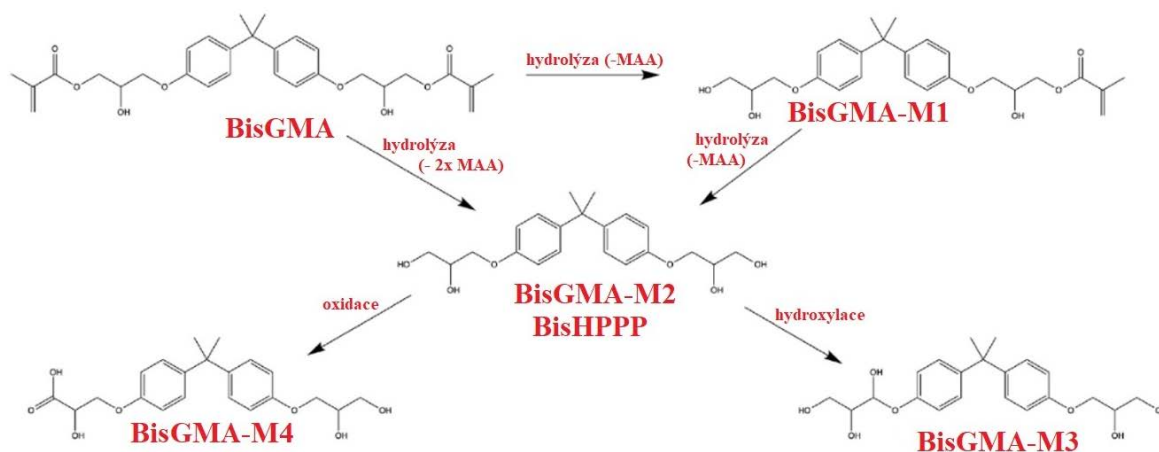
Monomer BisGMA			
Název	2,2-bis-[4-(2-hydroxy-3-methakryloyloxy-propoxy)-fenyl]propan		
 <p>BisGMA-A $R_1=H$ $R_2=MA$ BisGMA-B $R_1=MA$ $R_2=H$</p>	CAS	1565-94-2	
	Molární hmotnost [g·mol ⁻¹]	512,59134	
	Sumární vzorec	C ₂₉ H ₃₆ O ₈	
	Rozpustnost ve vodě (25 °C) [mg·ml ⁻¹]	–	
	Dynamická viskozita (25 °C) [Pa·s]	566,1	

2.8.1 Toxicita monomeru BisGMA

Provedené vědecké studie prokázaly, že BisGMA je vysoce cytotoxický (např. pro buňky zubní dřeně nebo pro buňky gingiválního fibroblastu) [166]. Mechanismus cytotoxicity spočívá v modifikaci permeability lipidové vrstvy buněčných membrán (BisGMA je vysoce liposolubilní) [160]. BisGMA je genotoxický, jelikož je schopné již při nižších koncentracích (0,02 až 0,6 mM) způsobit inhibici syntézy DNA [159]. BisGMA disponuje díky své chemické struktuře vysokou afinitou k erytrocytům a vysokým hemolytickým potenciálem [167]. Podle dostupných toxikologických dat pro monomer BisGMA je LD₅₀ pro krysy při orálním požití > 5 000mg/kg, ale podle některých zdrojů již od 2 000 mg/kg [148, 168].

2.8.2 BisGMA v hmotnostní spektrometrii

Monomer **BisGMA** (i jeho izomer), včetně jeho oligomerů a několika degradačních produktů je možné podle dostupné odborné literatury analyzovat prostřednictvím LC-MS (viz *tabulka 15*) [113, 169]. Degradace monomeru BisGMA na **BisGMA-M1** probíhá hydrolytickým odštěpením jedné MAA (viz *obrázek 16*). Monomer BisGMA či BisGMA-M1 můžou degradovat hydrolyticky odštěpením dvou MAA nebo zbývajících jedné MAA na **BisGMA-M2** (obě MAA jsou odštěpeny z původního u BisGMA). U obou degradačních produktů monomeru (BisGMA-M1 a BisGMA-M2) je možné pozorovat dva píky, každý pro jeden izomer monomeru BisGMA (nicméně nerozlišitelné na základě MS/MS spektra) [113, 138]. Degradační produkt BisGMA-M2 je často v literatuře označován jako BisHPPP [138, 149, 169]. Následná hydroxylace BisGMA-M2 vede ke vzniku **BisGMA-M3** a oxidace degradačního produktu BisGMA-M2 vede ke vzniku degradačního produktu **BisGMA-M4** (ten je na rozdíl od ostatních degradačních produktů pozorován v negativním módu ESI) [113].



Obrázek 16: Degradace monomeru BisGMA-A; upraveno z [113]

Dalšími degradačními produkty BisGMA jsou MAA, MMA, MMHM a **formaldehydu** (viz kapitola 2.5) [94, 114–116, 151, 167]. Dalším potenciálním degradačním produktem BisGMA je toxické BPA, které má estrogení účinek. Mezi další látky, které byly nalezeny v zubních kompozitech obsahujících BisGMA, patří BisGMA+M, které má ve své struktuře tři methakrylové skupiny. Další příbuznou látkou k monomeru BisGMA je nalezená látka BisGA, která má ve své struktuře dvě akrylové skupiny [113].

Tabulka 15: BisGMA v hmotnostní spektrometrii [113–116, 150, 151, 170]

Zkratka	Název	Původ	Sumární vzorec	Mw [–]	m/z v MS	m/z v MS/MS	zdroj
BisGMA-A	bisfenol A–glycidyl dimethakrylát	STD ⁷	C ₂₉ H ₃₆ O ₈	512,59	513,6; 530,6; 535,6	495,2; 427,2; 277,1; 259,1; 209,1; 173,1; 143,1; 69,0	[116, 151]
BisGMA-B (iso-BisGMA)	bisfenol A–glycidyl dimethakrylát	STD	C ₂₉ H ₃₆ O ₈	512,59	513,6; 530,6; 535,6	495,2; 277,1; 259,1; 173,1; 143,1; 135,0; 69,0	[113, 116]
BisGMA-M1-A	bisfenol A–glycidyl monomethakrylát	DP	C ₂₅ H ₃₂ O ₇	444,52	462,6; 467,5	427,2; 277,1; 209,1; 173,1; 143,1; 69,0	[116]
BisGMA-M1-B	bisfenol A–glycidyl monomethakrylát	DP	C ₂₅ H ₃₂ O ₇	444,52	462,6; 467,5	–	[116]
BisGMA-M2-A = BisHPPP	bisfenol A–glycidyl ether	DP	C ₂₁ H ₂₈ O ₆	376,44	394,5; 399,4	359,2; 209,1; 191,1; 135,1; 107	[116]
BisGMA-M2-B	bisfenol A–glycidyl ether	DP	C ₂₁ H ₂₈ O ₆	376,44	394,5; 399,4	209,1; 191,1; 173,1; 161,1; 149,1; 131,0; 119,0	[116]
BisGMA-M3		DP	C ₂₁ H ₂₈ O ₇	392,44	410,5; 415,4	225,1; 207,1; 189,1; 177,1; 165,1; 135,0	[116]
BisGMA-M4		DP	C ₂₁ H ₂₆ O ₇	390,43	389,4	301,1; 227,1; 212,1	[116]
MAA	kyselina methakrylová	DP	C ₄ H ₆ O ₂	86,09	–	–	[116]
MMA	methyl–methakrylát	DP	C ₅ H ₈ O ₂	100,12	118,2	59,0; 58,1	[113]
MMHM	methylester kyseliny 2–methyl–5–methylen–hexadekanové	DP	C ₁₀ H ₁₆ O ₄	200,23	218,1	106,0; 88,0; 57,1	[113]
	formaldehyd	DP	CH ₂ O	30,03	–	–	[114, 115]
BPA	bisfenol A	DP	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	228,29	227	227; 211,5; 132,8	[150, 151, 170]
BiSGMA+M		Imp	C ₃₃ H ₄₀ O ₉	580,66	598,3	563,3; 495,2; 277,1; 173,1; 143,1; 69,0	[113]
BisGA	bisfenol A–glycidyl diakrylát	Imp	C ₂₇ H ₃₂ O ₈	484,54	502,2	467,2; 263,1; 173,1; 129,1; 55,0	[113]

⁷ zkratka STD označuje, že se jedná o analyt ve standardu; zkratka DP označuje degradační produkt; zkratka Imp označuje nečistotu ze syntézy

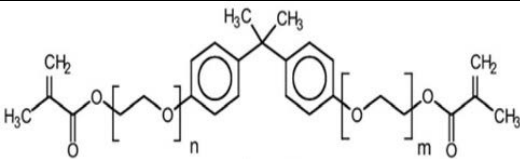
2.9 Monomer BisEMA

BisEMA je ethoxylovaná alternativa k monomeru BisGMA (také odvozená od BPA), která má vyšší molekulární hmotnost. Stručný přehled obecných a chemických charakteristik BisEMA je zpracován v tabulce 16 [171].

Monomer BisEMA je směs alifatických monomerů, které se od sebe liší délkou svého řetězce. Tyto jednotlivé monomery se liší molární hmotností o 44 g/mol, což odpovídá ethoxylové skupině (C_2H_4O). Standard monomeru obsahuje monomery BisEMA-2 až BisEMA-13 o relativní molekulové hmotnosti $(452 \pm (44)_n)$, kde n odpovídá počtu ethoxylových skupin v alifatickém řetězci (mezi aromatickým jádrem a methakrylovými skupinami) [113, 154]. Tyto monomery lišící se délkou řetězce se mohou, ale také vyskytovat ve formě různých strukturních izomerů (např. BisEMA-4, může mít jádro obklopené dvěma a dvěma ethoxylovými skupinami nebo také jednou a třemi skupinami) [172]. Odlišná délka řetězce může mít vliv na rozpustnost ve vodě hydrofilní charakter a viskozitu (není ani jisté, zda se jednotlivé vyrobené šarže standardu neliší ve složení jednotlivých BisEMA monomerů) [113].

Nicméně obecně tyto monomery mají ve své struktuře hydroxylové skupiny, které snižují oproti BisGMA viskozitu a umožňují vyšší stupeň konverze dvojných vazeb a tím i lepší mechanické vlastnosti [171]. Jelikož je BisEMA difunkční monomer, tak je schopný zesítení polymerní matrice, čímž jsou zlepšeny mechanické vlastnosti. Avšak i monomery BisEMA jsou uvolňovány z kompozitního materiálu do prostředí ústní dutiny, a to buď ty nezreagované, nebo monomery vzniklé hydrolyzou polymeru ve vodném prostředí ústní dutiny [128].

Tabulka 16: Obecné a chemické vlastnosti BisEMA [113, 141]

Monomer BisEMA			
Název		2,2-bis[4-(2-methakryloxy-ethoxy)-fenyl]propan	
 <p>$n+m = 2-13$ (i více)</p>	CAS	41637-38-1	
	Molární hmotnost $[g \cdot mol^{-1}]$	$452 \pm (44)_n$	
	Sumární vzorec	směs	
	Rozpustnost ve vodě $[mg \cdot ml^{-1}]$	–	
	Dynamická viskozita $[Pa \cdot s]$	3,0	

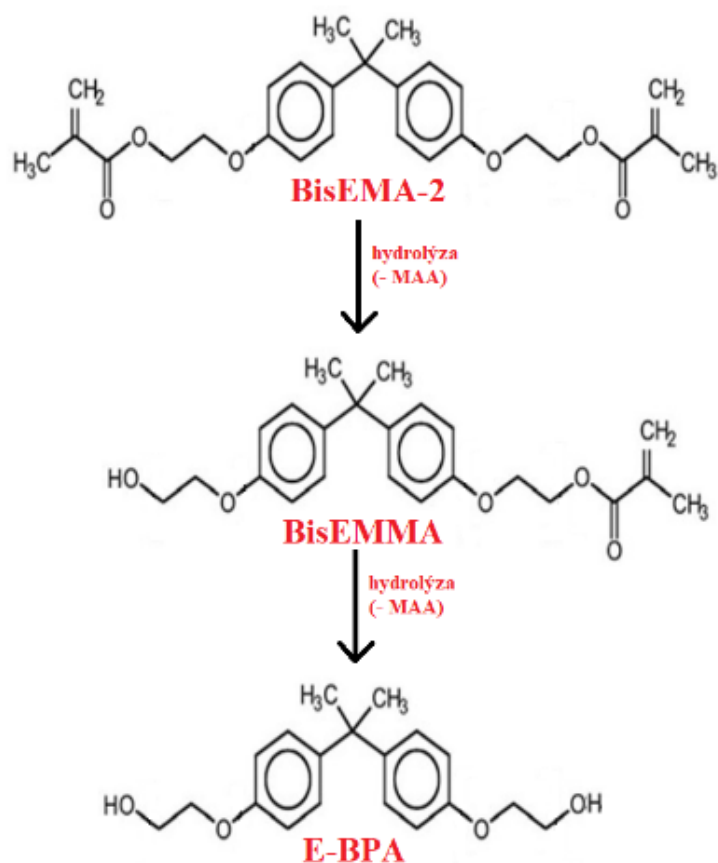
2.9.1 Toxicita BisEMA

Ačkoli monomery BisEMA jsou využívány pro dentální aplikaci již dekádu a řada vědeckých studií se zabývá jejich vlastnostmi, tak dosud (2019) nebyl prozkoumán **přímo** cytotoxický efekt tohoto monomeru [173]. Nicméně studie z roku 2005 velmi stručně zmiňuje, že monomer BisEMA-2 má stejný cytotoxický účinek jako monomer TEGDMA [159]. Podle dostupných toxikologických dat pro monomer BisEMA, konkrétně pro monomer BisEMA-6 je LD_{50} pro lidský organismus odhadováno při dermální expozici na $> 5\,000\,mg/kg$ [174].

2.9.2 BisEMA v hmotnostní spektrometrii

Monomer **BisEMA** (tedy BisEMA-2 až BisEMA-13, a to včetně jejich strukturních izomerů), včetně jeho oligomerů a několika degradačních produktů je možné podle dostupné odborné literatury analyzovat prostřednictvím LC-MS (viz *tabulka 17* a *tabulka 18*) [113, 172]. Množství vyloučeného monomeru BisEMA je kvantifikováno integrací všech jednotlivých píků simultánně [159]. Co se týče zastoupení jednotlivých monomerů v extrakčních mediích (o standardu není zmínka), tak dle dostupné literatury nejvyšší zastoupení má monomer BisEMA-3 s klesající intenzitou pro $m+n > 3$, což je vysvětlováno nižší elucí delších molekul kvůli sterickému efektu [175].

Monomer BisEMA-2 (**ostatní nejsou zmíněny**) může degradovat hydrolyticky odštěpením jedné MAA na **BisEMMA** [95]. Odštěpením druhé MAA (viz *obrázek 17*) vzniká E-BPA (někdy také označováno jako E-bisPA nebo EBP-A) [176–181].



Obrázek 17: Degradace BisEMA-2 na BisEMMA-2 a následný vznik E-BPA; upraveno z [95, 181]

Dalšími degradačními produkty BisEMA jsou MAA, MMA, MMHM a **formaldehydu** (viz kapitola 2.5). Jelikož BisEMA je strukturně odvozena od **BPA**, tak se BPA může vyskytovat ve standardu monomeru BisEMA jako nečistota, ale také jako její degradační produkt [94, 114–116, 182].

Tabulka 17: BisEMA v hmotnostní spektrometrii [113]

Zkratka	Název	Původ	Sumární vzorec	Mw [–]	m/z v MS	m/z v MS/MS	zdroj
BisEMA-2	ethoxylovaný (2) bisfenol A dimethakrylát	STD ⁸	C ₂₇ H ₃₂ O ₆	452,54	470,3	453,2; 247,1; 113,1; 69,0	[113]
BisEMA-3	ethoxylovaný (3) bisfenol A dimethakrylát	STD	C ₂₉ H ₃₆ O ₇	496,59	497; 514; 519	497,3; 291,2; 247,1; 113,1; 69,0	[113]
BisEMA-4	ethoxylovaný (4) bisfenol A dimethakrylát	STD	C ₃₁ H ₄₀ O ₈	540,64	–	541,3; 335,2; 291,2; 247,1; 113,1; 69,0	[113]
BisEMA-5	ethoxylovaný (5) bisfenol A dimethakrylát	STD	C ₃₃ H ₄₄ O ₉	584,70	–	379,2; 335,2; 291,2; 247,1; 113,1; 69,1	[113]
BisEMA-6	ethoxylovaný (6) bisfenol A dimethakrylát	STD	C ₃₅ H ₄₈ O ₁₀	628,75	629; 646; 651	379,2; 335,2; 291,2; 113,1; 69,0	[113]
BisEMA-7	ethoxylovaný (7) bisfenol A dimethakrylát	STD	C ₃₇ H ₅₂ O ₁₁	672,80	–	423,2; 379,2; 335,2; 291,2; 113,1; 69,0	[113]
BisEMA-8	ethoxylovaný (8) bisfenol A dimethakrylát	STD	C ₃₉ H ₅₆ O ₁₂	716,85	–	467,3; 423,2; 379,2; 335,2; 291,2; 113,1	[113]
BisEMA-9	ethoxylovaný (9) bisfenol A dimethakrylát	STD	C ₄₁ H ₆₀ O ₁₃	760,90	–	467,3; 423,2; 379,2; 335,2; 291,2; 113,1	[113]
BisEMA-10	ethoxylovaný (10) bisfenol A dimethakrylát	STD	C ₄₃ H ₆₄ O ₁₄	804,96	805; 822; 827	467,3; 423,2; 379,2; 335,2; 291,2; 113,1	[113]
BisEMA-11	ethoxylovaný (11) bisfenol A dimethakrylát	STD	C ₄₅ H ₆₈ O ₁₅	849,01	–	511,3; 467,3; 423,2; 379,2; 335,2 ; 113,1	[113]
BisEMA-12	ethoxylovaný (12) bisfenol A dimethakrylát	STD	C ₄₇ H ₇₂ O ₁₆	893,06	–	511,3; 467,3; 423,2; 379,2; 335,2; 113,1	[113]
BisEMA-13	ethoxylovaný (13) bisfenol A dimethakrylát	STD	C ₄₉ H ₇₆ O ₁₇	937,11	–	–	[113]

⁸ zkratka STD označuje, že se jedná o analyt ve standardu

Tabulka 18: Degradační produkty BisEMA v hmotnostní spektrometrii [95, 113–116, 150, 151, 170, 181, 183]

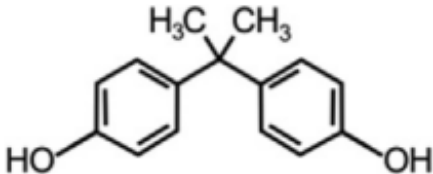
Zkratka	Název	Původ	Sumární vzorec	Mw [–]	m/z v MS	m/z v MS/MS	zdroj
BisEMMA–2	ethoxylovaný (2) bisfenol A monomethakrylát	DP ⁹	C ₂₃ H ₂₈ O ₅	383,46	384	113; 69	[95]
E–BPA	ethoxylovaný (2) bisfenol A	DP	C ₁₉ H ₂₄ O ₄	316,39	334,2; 339,2	178,8; 148,9	[181, 183]
MAA	kyselina methakrylová	DP	C ₄ H ₆ O ₂	86,09	–	–	[116]
MMA	methyl–methakrylát	DP	C ₅ H ₈ O ₂	100,12	118,2	59,1 ; 58,1	[113]
MMHM	methylester kyseliny 2–methyl–5–methylen–hexadekanové	DP	C ₁₀ H ₁₆ O ₄	200,23	218,1	106,0; 88,0; 57,1	[113]
–	formaldehyd	DP	CH ₂ O	30,03	–	–	[114, 115]
BPA	bisfenol A	DP	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	228,29	227	227; 211,5; 132,8	[150, 151, 170]

⁹ zkratka DP označuje degradační produkt

2.10 BPA

BPA (bisfenol A) je organická syntetická sloučenina ze skupiny bisfenolů, konkrétně derivát difenyl methanu. Stručný přehled obecných a chemických charakteristik BPA je zpracován v tabulce 20 [184, 185].

Tabulka 20: Obecné a chemické vlastnosti BPA [186]

BPA			
Název	2,2-bis(4-hydroxyfenyl)propan		
	CAS	80-05-7	
	Molární hmotnost [g·mol ⁻¹]	228,29	
	Sumární vzorec	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	
	Rozpustnost ve vodě (25 °C) [mg·L ⁻¹]	120	

BPA je celosvětově využíván při produkci plastových výrobků, jako jsou například polykarbonátové nádoby/obaly na jídlo, lahve na vodu nebo epoxidové výstelky potravinových konzerv. Každoročně je produkováno více než 2 milióny tun BPA. Využití BPA derivátů pro dentální aplikace bylo vyvoláno zejména obavami z toxicity rtuti, která je součástí zubních amalgámů [187]. Avšak vědecké studie ukazují, že kromě monomerů může docházet i k eluci dalších látek, a to zejména degradačních produktů [186, 188, 189]. Nejkontroverznější látkou je právě BPA, které je využíváno k syntéze některých monomerů (konkrétně BisGMA a BisEMA) a může proto difundovat z kompozitního materiálu pro dentální aplikace, ale i z obalových materiálů pro potraviny a vodu, jakožto reziduum syntézy nebo jako degradační produkt [186, 189, 190]. Krátce po aplikaci **některých** zubních výplní na bázi BPA byly zjištěny zvýšené koncentrace BPA ve slinách, ale i v oči, což potvrzuje eluci BPA z těchto materiálů [188]. Akumulující množství BPA nebo některých jeho derivátů může představovat riziko pro lidské zdraví [187].

2.10.1 Toxicita BPA

Jelikož je BPA strukturně podobný estrogenu, tak disponuje estrogením účinkem a dokáže tedy působit jako endokrinní disruptor (ED) [191, 192]. Již při nízkých koncentracích je schopný díky této strukturní podobnosti stimulovat buněčnou odezvu, čímž může mít negativní vliv na lidské zdraví [191]. Estrogenní účinek BPA je asociován se vznikem rakoviny prsu, srdečními chorobami, obezitou, kardiovaskulárními onemocněními, reprodukční toxicitou, vývojovými poruchami, ale také s diabetem 2. typu. Molekuly BPA jsou schopné taktéž poškodit DNA, negativně ovlivnit buněčné dělení a navodit mnoho dalších negativních dějů [182, 191, 192]. Podle dostupných toxikologických dat pro látku BPA je LD₅₀ pro krysy při orálním požití 2 000 mg/kg [193]. Z těchto důvodů je od roku 2011 v EU zakázáno použití BPA pro výrobu dětských lahví a balení kojenecké výživy. V roce 2018 Evropská agentura pro chemické látky (ECHA) umístila BPA na seznam látek vzbuzujících mimořádné obavy (SVHC) [192, 194].

2.10.2 BPA v hmotnostní spektrometrii

BPA se vyskytuje ve standardech BisGMA a BisEMA jakožto nečistota po jejich syntéze, ale může také vznikat degradací těchto monomerů. BPA je detekováno a kvantifikováno podle dostupné odborné literatury na rozdíl od monomerů v negativním módu elektrospreje (viz *tabulka 20*) a to prostřednictvím LC-MS [170, 195].

Tabulka 20: BPA v hmotnostní spektrometrii [151, [170]

Zkratka	Název	Sumární vzorec	Mw [–]	Adukty	MS/MS produktové ionty	zdroj
BPA	bisfenol A	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	228,29	227	227; 211,5; 132,8	[151, 170]

2.11 Testování zubních kompozitů pro dentální aplikace

K úspěšnému vývoji dentálního restorativního materiálu je důležité znát jeho chemické, fyzikální a mechanické vlastnosti. Významnou vlastností je také bakteriální, fyziologická a patologická odezva organismu na tento materiál. Avšak nejdůležitější vlastností materiálu je jeho biokompatibilita, která se odvíjí od předchozích vlastností [77]. Před uvedením zubního kompozitu (tedy zdravotnického prostředku) na trh je nutné provést bezpočet testů, které ověřují tyto vlastnosti, aby byla zajištěna jeho schopnost vykonávat danou funkci, a především jeho zdravotní bezpečnost [48, 196].

Za účelem zajištění uniformity způsobu testování ve světě jsou tyto testy standardizovány mezinárodní organizací pro normalizaci (ISO normy). V rámci těchto norem jsou popsány doporučené způsoby, jak by měly být dané testy provedeny k posouzení vhodnosti materiálu pro dentální aplikace [197]. Testy pro certifikaci zdravotnického prostředku se dělí na zkoušky účinnosti (zejména norma ČSN EN ISO 4049) a zkoušky bezpečnosti – biokompatibility (norma ČSN EN ISO 7405 a především ČSN EN ISO 10993). Norma ISO 4049 referuje o zkouškách materiálu na pevnost v ohybu a v tlaku, mikrotvrdost, polymerační smrštění, hloubku vytvrzení, sorpci vody, rozpustnost atd. Norma ISO 7405 a ISO 10993 zahrnuje zkoušky materiálu týkající se cytotoxicity, genotoxicity, karcinogenity, kožní citlivosti a mnohé další [196, 198, 199].

Biokompatibilitu zubního kompozitu určuje celá řada faktorů, jedním z nich je právě množství a povaha vyluhovaných složek do okolního prostředí. Cílem diplomové práce je tedy analýza látek uvolněných ze zubních kompozitů do různých extrakčních medií, čímž se zabývá norma ČSN EN ISO 10993. Tato norma má několik částí, ale pro experimentální část diplomové práce (viz kapitola 3) jsou důležité zejména ISO 10993–12 zabývající se přípravou vzorků a referenčním materiálem, ISO 10993–18 zabývající se chemickou charakterizací materiálu (konkrétně eluátů těchto kompozitů). Existuje několik mechanismů, které mohou způsobit uvolnění složek z polymerní matrice do extrakčního prostředí (respektive případně do ústní dutiny) [16, 121, 196].

2.12 Mechanismus uvolnění látek ze zubního kompozitu

Zubní kompozity jsou vystaveny náročnému a rozmanitému prostředí ústní dutiny, kde musí odolávat vlivu slin (vody a enzymů) a mechanickému namáhání, ale také exogenním látkám přijímaných v potravě a v pití jako jsou různé kyseliny, báze, soli, alkoholy, kyslík apod. [114].

Ze zubních kompozitů se mohou do ústní dutiny uvolnit různé látky (nezreagované monomery, oligomery, látky fotoiniciačního systému a jejich degradační produkty), které mohou mít negativní vliv na lidské zdraví, ale také na strukturální stabilitu a biokompatibilitu samotné zubní výplně [121, 200]. Množství uvolněných látek je ovlivněno složením kompozitního materiálu (různé procentuální zastoupení monomerů, rozdílné vlastnosti monomerů – velikost, ohebnost řetězce a odlišný tvar, velikost částic plniva a výztuže), viskozitou, polymerním smrštěním, stupněm přeměny dvojných vazeb, ale také samotným rozpouštědlem (extrakčním prostředím) [200]. Tyto uvolněné a potenciálně škodlivé látky mohou následně proniknout přímo do orální sliznice nebo difundovat přes dentinové tubuly až do zubní dřeně nebo se mohou těkavé látky absorbovat v plicích (riziko pro pracovníky zubní ordinace) anebo také může docházet k polknutí slin s těmito uvolněnými látkami a mohou se dostat až do gastrointestinálního traktu. Mimo jiné, difuze nezreagovaných monomerů ze zubního kompozitu stimuluje růst bakterií v blízkosti zubní výplně [201–203].

Bylo zjištěno, že obecně existují 2 mechanismy, které mohou způsobit uvolnění látek ze zubních kompozitů: 1) Difuze látek ze zubního kompozitu a 2) Eroze a degradace polymerní matrice [16].

2.12.1 Difuze látek ze zubního kompozitu

Polymerní sítě jsou považovány za vysoce nerozpustné struktury, které jsou chemicky i tepelně stabilní. Nicméně polymerní síť je schopna absorbovat vodu a další látky z okolního prostředí a následně může tedy docházet k uvolňování (difuzi) látek z polymerní matrice do okolí [114].

V ústní dutině dochází k difuzi molekul vody (případně jiných látek) do zubního kompozitu, což způsobuje absorpci vody na polymerní matici. Následně může docházet k rozpuštění nezreagovaných monomerů a částic plniva či výztuže a k jejich následné eluci ven z kompozitního materiálu vlivem difuze. Mimo jiné mohou molekuly vody způsobovat hydrolytickou degradaci (viz kapitola 2.12.2.1). Uvolnění těchto látek ze zubní výplně může ovlivnit strukturu, estetický vzhled a biokompatibilitu zubního kompozitu). Samotnou eluci látek ovlivňuje řada faktorů, a to zejména **typ rozpouštědla** (jeho chemická povaha ovlivňuje jak kinetiku, tak i mechanismus eluce), velikost molekul (menší molekuly mají vyšší mobilitu), struktura (rigidní molekuly difundují pomaleji než ohebné řetězce) ale i chemické vlastnosti vylouhovaných látek. Množství uvolněných látek úzce souvisí se stupněm přeměny dvojných vazeb polymerní sítě [204, 205].

Ve vytvrzeném zubním kompozitu zůstává 25 až 77 % methakrylových skupin nezreagovaných z celkového množství před polymerizací a z tohoto množství může přibližně 0,05 až 10 % (vědecké studie se značně rozcházejí, ale záleží také na extrakčním médiu) difundovat ze zubního kompozitu do prostřední ústní dutiny (popř. jinam viz kapitola 2.12) [114, 121, 147]. Potenciální množství uvolněných monomerů je nízké i přes vysoké množství nezreagovaných methakrylátových skupin, jelikož používané monomery jsou obvykle difunkční, ale mají zreagovanou alespoň jednu ze dvou dvojných vazeb methakrylátové skupiny (v angličtině tzv. pendants), takže nemůže dojít k jejich eluci ze zubního kompozitu [205].

Kromě nezreagovaných monomerů, látek fotoiniciačního systému a degradačních produktů může také docházet k eluci částicové výplně a vláknové výztuže ze zubního kompozitu. Výsledkem eluce všech těchto látek je úbytek váhy zubního kompozitu, který může dosáhnout až 2 % z původní váhy zubního kompozitu [204–206].

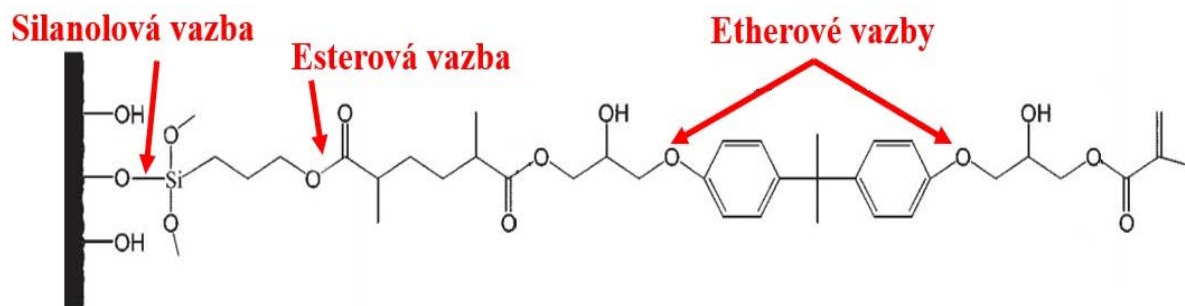
Vědecké studie zabývající se studiem difuze monomerů a dalších látek ze zubních výplní ukazují, že difuze těchto látek probíhá dle Fickových zákonů. Avšak množství uvolněných monomerů může být navýšeno probíhající degradací, kterou mohou vznikat kromě degradačních produktů i samotné monomery, které jsou následně uvolněny ze zubního kompozitu stejně jako nezreagované monomery [207, 208].

2.12.2 Eroze a degradace polymerní matrice zubního kompozitu

Degradace a eroze kompozitního materiálu v ústní dutině je způsobena slinami (především vlivem vody a enzymů), žvýkáním (mechanické namáhání), teplotními změnami (potrava a nápoje), změnami pH v ústní dutině (potrava a nápoje) [201]. Tyto degradační procesy ovlivňují mikrostrukturu kompozitní výplně tvorbou pórů, otvorů nebo prasklin, ze kterých se mohou uvolnit degradační produkty, monomery nebo oligomery, a to především štěpením nebo oxidací reakčních center (např. dvojných vazeb apod.). K degradaci dochází různými mechanismy, a to vlivem **chemických** (voda, enzymy, organické kyseliny a různé pH), **mechanických a teplotních faktorů** [16, 169, 201]. Tyto faktory jsou zodpovědné za degradaci kolektivním způsobem, například efekt vody ve slinách je doprovázen mastifikací a teplotními změnami uvnitř ústní dutiny (synergický účinek směřující k degradaci materiálu) [201]. Naproti tomu eroze je proces, během kterého nedochází např. ke štěpení vazeb, ale už k samotné ztrátě materiálu, tedy k uvolnění monomerů či oligomerů z kompozitu [209].

2.12.2.1 Vliv vody

Degradace zubních kompozitů může být v ústní dutině způsobena hydrolýzou silanolové vazby, esterové vazby, etherových vazeb nebo hydroxylových vazeb (viz *obrázek 18*). Nejdříve dochází k difuzi vody do polymerní matrice, následně k hydrolytickému štěpení dvojných vazeb nebo k oxidaci či hydrolýze funkčních skupin. Poté dochází k difuzi degradačních produktů, monomerů či oligomerů ze zubního kompozitu [114, 169].



Obrázek 18: Mechanismus degradace hydrolýzou různých typů vazeb; upraveno z [169]

2.12.2.2 Vliv enzymů

Degradace zubního kompozitu může být taktéž způsobena enzymy obsaženými ve slinách (např. amylázy, esterázy, proteázy, oxidázy aj.). Jelikož molekuly enzymu jsou značně větší oproti molekulám vody, tak mají omezenou mobilitu v polymerní matrici. Z tohoto důvodu bude docházet k degradaci polymerní matrice pravděpodobněji blíže k povrchu či právě přímo na povrchu zubní výplně. Působením enzymů bude docházet ke štěpení vazeb a k následnému uvolňování monomerů, oligomerů nebo různých degradačních produktů ze zubní výplně [114, 210].

Nicméně enzymy zodpovědné za degradaci zubního kompozitu nemusí pocházet pouze z lidských slin, ale mohou být také produkovány bakteriemi tvořící zubní plak. Tyto bakterie produkují řadu hydrolytických a proteolytických enzymů, které jsou schopny štěpit vazby polymerní matrice [210].

Jakmile dojde k enzymaticky katalyzovanému štěpení na povrchu zubního kompozitu, tak je odkryta další vrstva polymerní matrice, která může podléhat dalšímu působení enzymů případně dalším nepříznivým vlivům v ústní dutině (mechanické opotřebení mastifikací apod.), čímž dochází nejen k uvolnění dalších potenciálně škodlivých látek, ale také k narušení strukturální integrity zubní výplně [210].

2.12.2.3 Vliv mikroorganismů

Bakterie jsou schopné osídlit kromě lidských zubů také i zubní výplně, kde produkují již zmíněné enzymy (viz kapitola 2.12.2.2), ale mimo jiné jsou schopny produkovat organické kyseliny (především kyselinu octovou, kyselinu propionovou nebo kyselinu mléčnou). Tyto organické kyseliny mohou způsobit degradaci polymerní sítě a uvolnění degradačních produktů nebo monomerů či oligomerů [114, 210, 211].

2.12.2.4 Vliv pH

Hodnota pH v ústní dutině se mění velmi dynamicky a tím je ovlivněna reakční kinetika degradačních reakcí (skrze katalýzu ovlivňují reakční rychlost). Jelikož hydrolýza esterů může být katalyzována jak kyselinou, tak zásadou, tak je možné vlivem pH změnit reakční rychlost o několik řádů [209]. Vznikající degradační produkty nebo uvolněné látky (včetně monomerů) mohou následně pH v póru kompozitu ještě snížit či zvýšit a tím případně reakci urychlit. V závislosti na pH degradačního prostředí by se tedy měly lišit uvolněné látky ve svém složení, ale i kvantitě [212].

2.12.2.5 Vliv mechanického namáhání

Degradace zubního kompozitu v ústní dutině může být také podpořena vlivem mechanického namáhání během žvýkání, které představuje relativně slabou, opakující se zátěž. Opakující se mechanické zatížení spolu s ostatními vlivy v ústní dutině může způsobit vznik prasklin a případně jejich následný růst nebo v krajním případě destrukci zubní výplně [201].

2.12.2.6 Vliv teplotních změn

Rutinní přijímání potravy a pití způsobuje teplotní změny v ústní dutině a kvůli rozdílnému koeficientu teplotní roztažnosti zubní výplně vůči původnímu zubu dochází k namáhání materiálů (kvůli mechanickému napětí materiálu) a případně i k degradaci zubního kompozitu [201].

2.13 Analytické metody

Ke kvalitativnímu a kvantitativnímu stanovení uvolněných látek ze zubních kompozitů je nutné použít vhodnou analytickou metodu. Podle normy ČSN EN ISO 10993 a aktuální vědecké literatury jsou doporučovány následující analytické metody: plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS), kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC-MS) nebo kapalinová chromatografie s diodovým polem (LC-DAD) [159, 196, 210].

Výběr vhodné metody je částečně závislý na molekulární hmotnosti organických látek. Například vysoko–molekulární monomery jako jsou UDMA, BisGMA nebo BisEMA je vhodnější stanovit prostřednictvím kapalinové chromatografie a nízko–molekulární monomery pomocí plynové chromatografie (nicméně lze je stanovit i pomocí LC-MS) [97, 113]. Avšak podle literatury vysoko–molekulární monomery není zcela vhodné analyzovat prostřednictvím plynové chromatografie, jelikož dochází k jejich rozkladu a detekovatelné jsou pouze produkty tohoto rozkladu [159]. Vzhledem k tomu, že dochází nejen k extrakci monomerů a oligomerů ze zubního kompozitu, ale i ke vzniku degradačních produktů, tak je vhodnější analytická metoda LC-MS, která umožňuje oproti LC-DAD i kvalitativní stanovení těchto produktů, ale i kvalitativní určení oligomerů [210]. Z těchto důvodů byla vybrána jako analytická koncovka metoda LC-MS, která podle dostupné odborné literatury umožňuje stanovení i látek fotoiniciačního systému (CQ a DMAEMA), antioxidantu BHT a látky BPA [19, 97, 151].

Podle dostupné odborné literatury nejčastěji využívaným typem chromatografických separačních kolon pro separaci monomerů, ale i dalších látek ze zubních kompozitů jsou různé druhy kolon C18 [151], např.

- Agilent Poroshell 120 EC–C18 o rozměrech 100x3,0 mm s částicemi o velikost 2,7 µm [116]
- Acquity UPLC BEH C18 o rozměrech 50x2,1 mm s částicemi o velikosti 1,7 µm [96]
- Symmetry C18 o rozměrech 150x4,6 mm s částicemi o velikost 5 µm [213]

Všechny uvedené kolony jsou C18, a kromě svých rozměrů (rozdíl, zda použito HPLC nebo UPLC, viz kapitola 2.13.1.1) se všechny liší svým označením, výrobcem a dalšími vlastnostmi, jako jsou zejména **odlišný endcapping**, rozdílná hydrofobicitata, rozdílná pH stabilita, rozdílná stabilita ve vodné mobilní fázi (některé kolony tolerují až 100 %), selektivita, rozlišení a výsledně tedy i rozdílná chromatografická separace (rozdílné retenční časy na různých kolonách). Mimo jiné se mohou lišit kvalitou plnění kolony, čistotou silikagelu a různou distribucí velikosti použitých částic. Nicméně výsledný výběr kolony C18 ovlivňuje zejména dostupnost v daných zemích (různá u různých výrobců pro různé země), ale také především zvyklosti v daných laboratořích [214–216].

K eluci těchto látek byla preferována gradientní eluce, kde byla využívána obvykle směs mobilních fází:

- 0,1% kyseliny mravenčí a acetonitrilu [151, 217]
- 0,1% kyselina mravenčí a methanolu [169]
- 1mM fluorid amonný ve vodě a 1mM fluorid amonný v methanolu [116]
- 2mM octan amonný a methanolu [96]

Na Vysokém učení technické, fakultě chemické (VUT FCH), konkrétně na Ústavu chemie a technologie ochrany životního prostředí (ÚCHTOŽP), kde je diplomová práce zpracovávána je k dispozici HPLC-ESI-IT a UPLC-ESI-TQ, které představují vhodnou analytickou koncevku jak pro kvalitativní, tak i kvantitativní analýzou uvolněných látek ze zubních kompozitů.

2.13.1 Kapalinová chromatografie

Kapalinová chromatografie je jedna z nejrozšířenějších a nejvýznamnějších analytických separačních metod. Chromatografický systém je schopný separovat rozpuštěné ionty, organické látky ale i makromolekuly (včetně jejich monomerů, oligomerů a degradačních produktů) [210, 218].

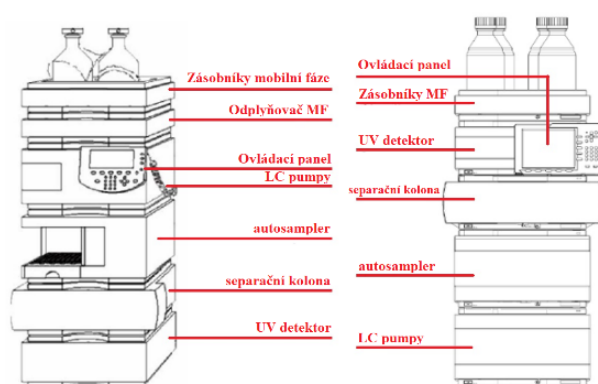
Separační proces je založený na rozdělování mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze (stacionární a mobilní fázi). Fáze stacionární je nepohyblivá (pevné částice vyplňující kolonu) a fáze mobilní je pohyblivá (kapalina). Obecně je využíván eluční způsob vyvíjení, kdy je vzorek nadávkován na kolonu a následně mobilní fáze (eluční činidlo) prochází kolonou, dokud nejsou jednotlivé složky vzorku eluovány. Pořadí eluovaných složek záleží na afinitě ke stacionární fázi a k mobilní fázi, tedy na jejich poměru. V případě, že jednotlivé složky nemají dostatečně rozdílné afinity, tak nedojde k jejich separaci. Existuje celá řada separačních mechanismů (adsorpce, rozdělovací, výměna iontů, vylučovací, afinitní atd.), ale všechny jsou založeny na distribuci analytu mezi stacionární a mobilní fázi. Při separaci se obvykle uplatňuje více mechanismů zároveň, ale jeden je vždy obvykle dominantním [218–220].

Před separací je nutné nadávkovat vzorek do chromatografického systému. Samotný proces separace začíná až po vytvoření zóny na začátku kolony, kde jsou obsaženy všechny složky směsi. Každá složka směsi má rozdílnou afinitu ke stacionární fázi, a tedy i rozdílný počet (četnost) a velikost interakcí v průběhu separace. Čím větší afinitu má složka vzorku ke stacionární fázi tím déle setrvá v koloně a má delší tzv. retenční čas. Každá molekula vzorku v průběhu chromatografické separace přejde mnohokrát z mobilní fáze na stacionární fázi a zpět (udržuje se rovnováha). Mobilní fáze postupuje kolonou určitou rychlostí a unáší vzorek, který je zrovna součástí mobilní fáze. Interaguje-li zrovna složka vzorku se stacionární fází, tak nedochází k migraci chromatografickým systémem. Každá složka postupuje kolonou tedy jinou rychlostí na základě své afinity [221–222].

V dnešní době jsou v kapalinové chromatografii používány techniky zvané HPLC (High performance liquid chromatography – Vysokoúčinná kapalinová chromatografie) a novější technika UPLC (Ultra performance liquid chromatography – Ultraúčinná kapalinová chromatografie) [218, 223].

2.13.1.1 Technika HPLC a UPLC

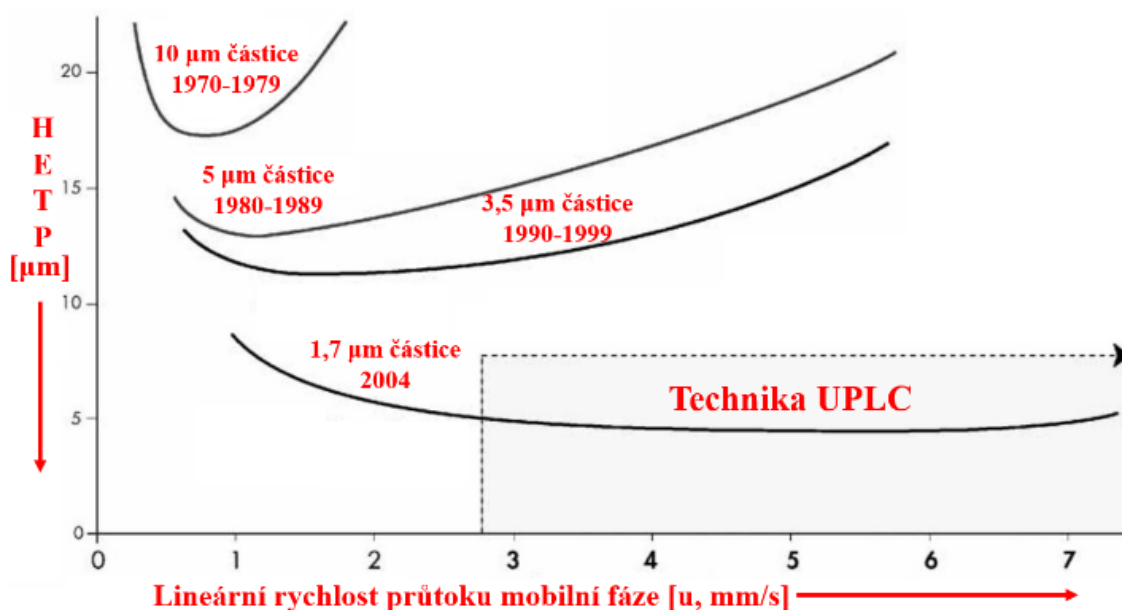
Obě techniky jsou založeny na stejném principu, takže mají stejné části (viz *obrázek 19*) [223]. Chromatografický systém má zásobníky mobilní fáze (obvykle 2–4) a odplyňovač mobilní fáze (vakuové odplynění). Dále disponuje pumpami, které zajišťují konstantní průtok mobilní fáze, ale také jsou schopny měnit složení mobilní fáze v průběhu analýzy (izokratická nebo gradientová eluce). Vzorek je dávkován do proudu mobilní fáze prostřednictvím automatického dávkovače. Před samotnou kolonou se většinou nachází předkolona (popřípadě filtr), která prodlužuje životnost kolony a zároveň zlepšuje samotnou separaci zadržováním nečistot. Chromatografická kolona je umístěna v termostatu, který zajišťuje vyšší reprodukovatelnost výsledků (teplota kolony zpravidla o něco vyšší, než je teplota v laboratoři). Eluát putuje z kolony na detektor (např. diodové pole, fluorescenční detektor, refraktometrický detektor nebo **hmotnostní spektrometr**) [218, 220, 222].



Obrázek 19: Schéma HPLC vs UPLC na VUT FCH; upraveno z [224]

U technik HPLC a UPLC se chromatografické kolony (ocelová trubice naplněná částicemi) liší svými rozměry (průměrem a délkou kolony a velikostí částic). Kolony jsou naplněny různými typy částic (mikropartikulární, perfuzní, neporézní nebo povrchově porézní). U HPLC se využívají obvykle kolony o délce až 25 cm s vnitřním průměrem 3,0 až 4,6 mm, které jsou naplněny částicemi o velikosti 3 až 5 μm . U UPLC se využívají obvykle kolony kratší, např. o délce 10 cm s vnitřním průměrem 1 až 2,1 mm, které jsou naplněny částicemi o velikosti menší než 2 μm [222, 223, 225]. Částice stacionární fáze jsou polární (neupravený silikagel) a jako mobilní fáze se používá nepolární rozpouštědlo (hexan, tetrahydrofuran). Takové uspořádání se označuje jako systém normálních fází (NP). Avšak častěji se užívá modifikovaný silikagel, na který je navázán nejčastěji oktadecyl (stacionární fáze nepolární). Jako mobilní fáze se užívá polární rozpouštědlo (směs vody a acetonitrilu nebo vody a methanolu). Takové uspořádání se označuje jako systém s obrácenými fázemi (RP) [220].

Vznik techniky UPLC umožnil právě technologický rozvoj v oblasti plnění kolon (**velikost částic menší než 2 μm**) a rozvoj instrumentace (pumpy, injektory, ale i detektory), která umožňuje analýzy za výrazně vyšších tlaků (u HPLC do 350 až 400 barů a u UPLC okolo 1 000 barů), což zapříčinilo vyšší rozlišení, senzitivitu a zároveň zkrátilo čas analýz. Tento rozvoj je zcela řízen principy **Van Deemterovy rovnice**, která popisuje závislost výškového ekvivalentu teoretického patra (HETP) na lineární průtokové rychlosti (jednou z proměnných je právě velikost částic, viz *obrázek 20*) [223, 226].



Obrázek 20: Van Deemterova křivka; upraveno z [223]

Zmenšením částic na velikost menší než 2 μm je dosaženo zvýšení účinnosti separace (snížení HETP, a tedy zvýšení počtu teoretických pater) a tato účinnost přetrvává i při zvýšené rychlosti průtoku mobilní fáze [223]. I přes existenci neporézních částic o velikosti < 2 μm, tak jsou preferovány povrchově porézní částice, které mají vyšší kapacitu, ale jsou schopné také ustát vysoké tlaky v chromatografické koloně (čím menší částice, tak tím větší odpor průtoku mobilní fáze, tzn. vyšší tlak na koloně). Z tohoto důvodu jsou u UPLC využívány kolony s částicemi menší než 2 μm v kombinaci s kratšími kolonami, což umožňuje kratší analýzy a zároveň účinnější separace (oproti HPLC) [223, 226].

Vysoké nároky jsou taktéž kladeny na detektor, jelikož píky u UPLC jsou značně užší (oproti HPLC), tak je nutné, aby detektor měl vysokou citlivost, ale také rychlou odezvu, aby dokázal zachytit dostatek datových bodů pro vytvoření píku (je doporučováno 15–20 bodů přes jeden pík). Čehož je snadno dosaženo při tandemovém spojení UPLC s MS, kde díky užším píkům (kratší doba eluce dané látky) je zvýšena účinnost ionizace v iontovém zdroji a rychlá odezva kvadrupolu nebo analyzátoru doby letu je ideální pro zisk dat [223, 227].

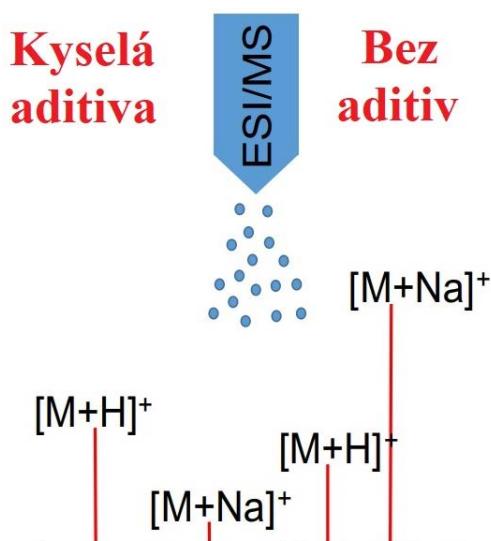
2.13.2 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie (MS) je analytická metoda, založená na interakci iontů v plynné fázi s magnetickým a elektrickým polem. Vzniklé ionty (ionizované molekuly, jejich fragmenty a asociáty) jsou rozdělovány podle jejich poměru hmotnosti a náboje (efektivní hmotnost m/z). Výstupem měření je hmotnostní spektrum, tedy závislost četnosti jednotlivých iontů na efektivní hmotnosti. Hmotnostní spektrometrie je využívána jak v kvalitativní analýze (strukturní analýza a identifikace molekul), tak i v kvantitativní analýze až na úroveň stopových a ultrastopových množství. Spojení LC-MS představuje velmi účinný analytický nástroj, jak pro kvalitativní, tak i kvantitativní analýzu [220, 222].

Hmotnostní spektrometr se skládá z následujících částí: **vakuový systém** (zodpovídá za tvorbu vysokého vakua, které je esenciální pro separaci iontů podle m/z), **vstup vzorku** (při spojení s LC ve formě eluentu přímo z chromatografické kolony), **iontový zdroj** (slouží k ionizaci neutrálních molekul, pro kapalné vzorky je nejčastěji používán elektrosprej, pro nějž je charakteristická tvorba aduktů, viz kapitola 2.13.2.1), **hmotnostní analyzátor** (za vysokého vakua dochází k separaci iontů na základě poměru m/z , existuje řada hmotnostních analyzátorů, viz kapitola 2.13.2.2) a **detektor iontů** (obvykle elektronový násobič, na nějž dopadající ionty generují elektrický signál úměrný množství dopadajících iontů) [220, 222, 228].

2.13.2.1 Aditiva v mobilní fázi pro tvorbu aduktů

Elektrosprej (ESI) je vhodným iontovým zdrojem pro ionizaci netěkavých polárních a iontových látek (je nutné, aby byly v roztoku již přítomné ionty, jelikož nejsou přímo vytvářeny elektrosprejem) [220, 228]. Eluát z kolony je při gradientní eluci tvořen směsí mobilních fází, ve které je rozpuštěný vzorek a případně různá aditiva (např. kyselina mravenčí, trifluoroctová kyselina mravenčan amonný, hydroxid amonný, ...) [229]. Ionizací prostřednictvím ESI může ovlivnit celá řada faktorů jako je například pH mobilní fáze, aditiva v mobilní fázi, rychlost průtoku mobilní fáze, složení mobilní fáze, koncentrace elektrolytů v mobilní fázi, viskozita mobilní fáze, povrchové napětí a mnoho dalších faktorů [229–231]. Mezi obvykle pozorované ionty v kladném ionizačním módu elektrospreje patří protonovaná molekula $[M+H]^+$ a adukty $[M+NH_4]^+$, $[M+Na]^+$ a $[M+K]^+$ (tyto ionty mohou být pozorovány ve hmotnostním spektru zároveň). Ionty těchto aduktů pocházejí z aditiv mobilní fáze, nečistot mobilní fáze, z použitého skla atd. Nicméně důležité je, že adukty pozorované ve hmotnostních spektrech jsou řízeny rovnováhami (viz *obrázek 21*) a ty je možné řídit přidáním vhodného aditiva do mobilní fáze (jeden výrazně intenzivní čili dominantní adukt je preferován oproti několika méně intenzivním aduktům). Úprava složení mobilní fáze může tedy mít velmi vysoký účinek na výslednou intenzitu iontu o daném m/z [231].



Obrázek 21: Intenzita aduktů analytu podle aditiv v mobilní fázi; upraveno z [231]

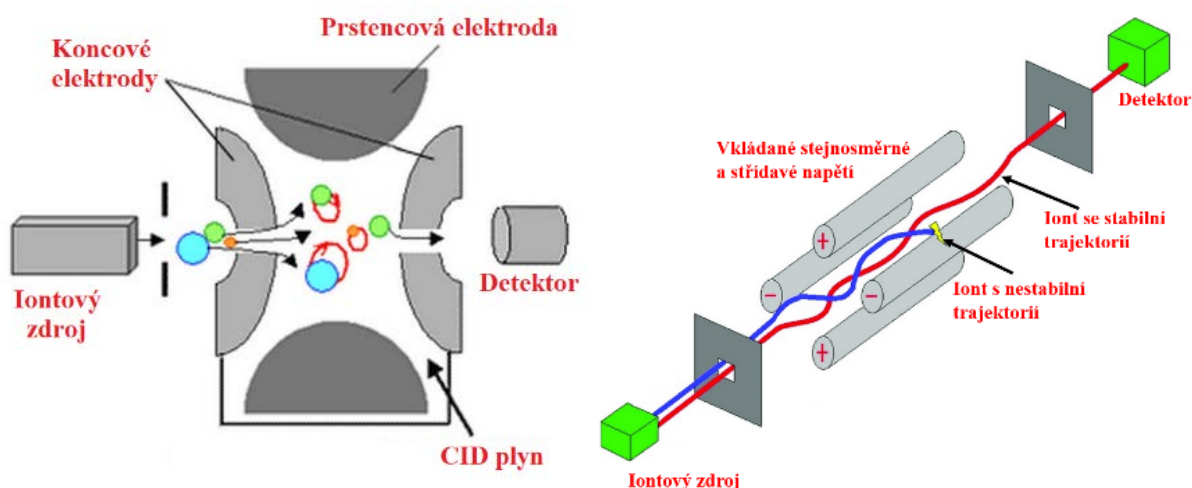
2.13.2.2 Hmotnostní analyzátory IT a TQ

Hmotnostní analyzátory separují ionty na základě jejich poměru hmotnosti k náboji (m/z). Existuje několik typů hmotnostních analyzátorů (viz *Tabulka 21*), které fungují na rozdílném principu a mají rozdílné charakteristiky [228]. Důležitými charakteristikami hmotnostních analyzátorů jsou rozlišení, hmotnostní rozsah, přesnost zjišťovaných hmotností, dynamický rozsah a rychlost provedení skenu [222].

Tabulka 21: Přehled základních charakteristik hmotnostních analyzátorů [232, 233]

Typ analyzátoru	Rozlišení	Hmotnostní rozsah m/z	Přesnost zjišťovaných hmot	Dynamický rozsah	Rychlost provedení skenu
Kvadrupól	2 000	4 000	100 ppm	10^5 (TQ až 10^7)	střední
Iontová past	4 000	6 000	100 ppm	10^4	rychlá
TOF	5 000	$> 1\,000\,000$	200 ppm	10^4	rychlá
TOF s reflektorem	20 000	10 000	10 ppm	–	rychlá
Magnetický sektor	100 000	20 000	< 10 ppm	10^7	pomalá
FTICR	500 000	30 000	< 5 ppm	10^4	pomalá
Orbitrap	100 000	50 000	< 5 ppm	–	pomalá

Na VUT FCH se konkrétně nachází HPLC-ESI-IT a UPLC-ESI-TQ, jejichž hmotnostní analyzátory (viz *obrázek 22*) jsou srovnány v této kapitole.



Obrázek 22: Schéma sférické iontové pasti a kvadrupólu; upraveno z [234, 235]

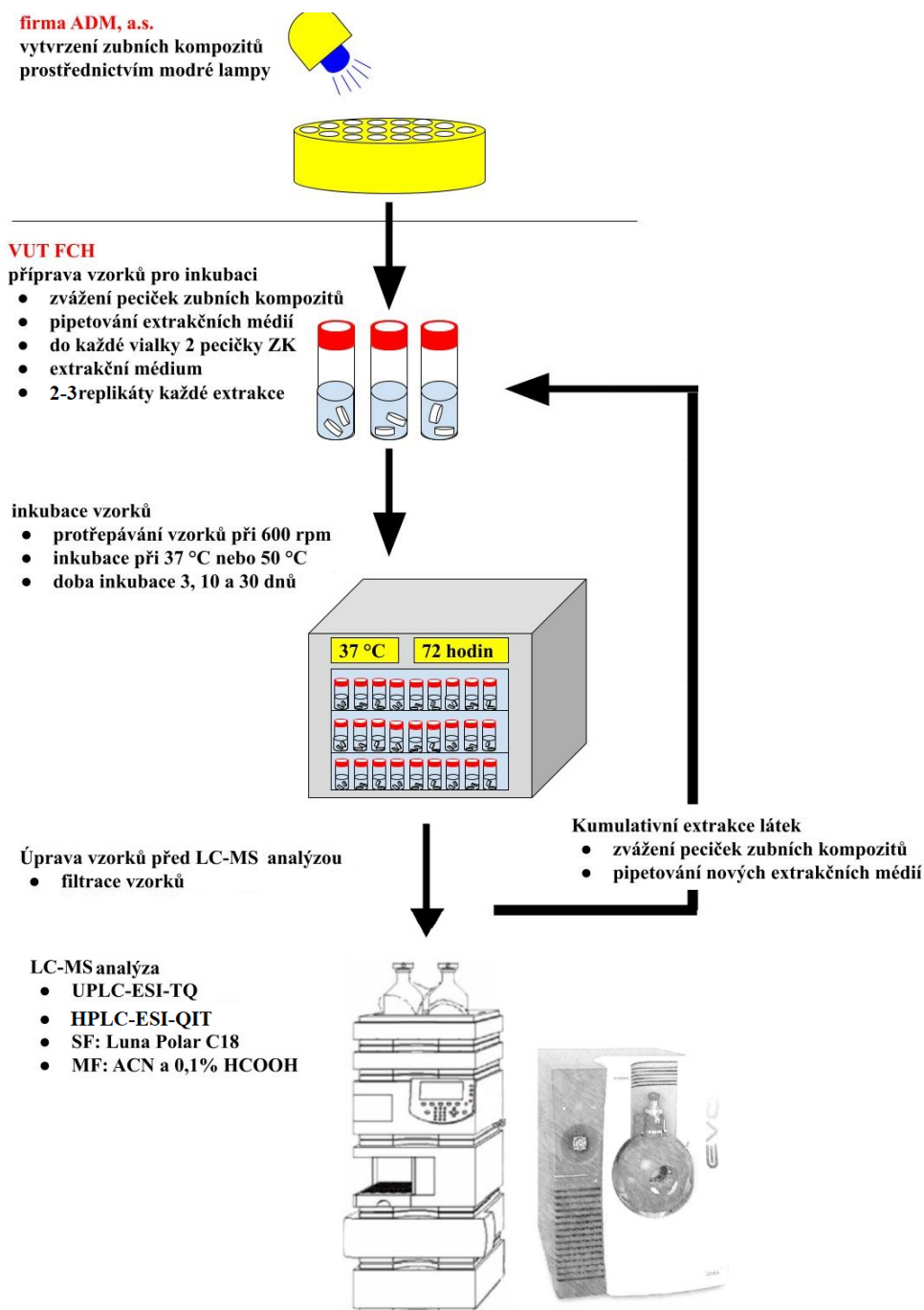
Důležitým faktorem ovlivňující výkon LC-MS/MS je typ použitého analyzátoru. V dnešní době je pro cílenou analýzu a kvantifikaci řady různých látek preferován právě TQ (QqQ), jehož nespornou výhodou je právě mód MRM, který umožňuje simultánní sledování několika přechodů, které jsou nutné pro identifikaci dané látky a výsledně nižší limity kvantifikace (LOQ) [236–238]. Největší nevýhodou TQ je nízká citlivost ve full-scan módu oproti některým jiným typům hmotnostních analyzátorů [237]. Ta je způsobena tím, že kvadrupól funguje v kontinuálním režimu a v danou dobu skenuje vždy pouze jednu m/z . Citlivost ve full-scanu je primárně určena minimálním pozorovacím časem (anglicky dwell time), což je doba, po kterou jsou pozorovány ionty o určité jedné m/z [239]. Proto čím větší je rozsah skenovaných hmot, tak tím menší je hodnota minimálního pozorovací času pro každou m/z , a tím je menší citlivost ve full scan módu (velmi často nedostačující). Z tohoto důvodu je obvykle kvadrupól používán v SIM módu, kde jsou snímány pouze konkrétní ionty známých látek, čímž je značně zvýšen minimální pozorovací čas, a tím výsledně také citlivost [240].

Naopak právě iontová past má vysokou citlivost ve full-scanu, čímž umožňuje získání celého hmotnostního spektra i při nízkých koncentracích (funguje v pulzním režimu, kdy nejdříve ionty akumuluje v celém hmotnostním rozsahu a následně dochází k jejich vylétávání podle poměru m/z), proto je spíše naopak preferována pro kvalitativní analýzu (např. určení degradačních produktů nebo metabolitů) než-li kvantifikaci samotných látek. Citlivost iontové pasti ve full-scanu je přibližně 10 až 100krát větší než u TQ [236, 238, 240]. Další výhodou iontové pasti je vyšší rozlišení, než má TQ. Unikátní vlastností iontové pasti je možnost provádět MS^n experimenty, které jsou důležité pro kvalitativní analýzu. Experimenty MS/MS jsou prováděny u iontové pasti v čase spíše, než v prostoru jako je to u TQ, což umožňuje iontové pasti provádění experimentů MS^n pouze s jednou iontovou pastí [232, 239, 241]. Nicméně nevýhodou MS^n experimentů u iontové pasti je, že nedochází k efektivnímu zachytu produktových iontů o m/z menší než $1/3$ m/z prekurzorového iontu (pravidlo 30/70). Iontová past není vhodná pro kvantifikaci (oproti TQ), jelikož má nižší dynamický rozsah a zachycuje kromě iontů analytu i ionty matrice (TQ funguje jako filtr a není plněn ionty jako iontová past), což způsobuje u iontové pasti nižší citlivost [240, 241].

Trojité kvadrupól i iontová past mají své výhody i značné nevýhody. Značnou nevýhodou u obou hmotnostních analyzátorů je zejména nízké rozlišení např. oproti vysokorozlišovacím analyzátorům jako je TOF, orbitrap nebo FTICR. Nicméně volbu hmotnostního analyzátoru neurčují jenom jeho parametry, ale i jeho cenové náklady na jeho pořízení a samotný provoz [238, 242].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Předmětem experimentální části práce je analýza látek uvolněných ze zubních kompozitů do různých extrakčních médií, a to na základě ČSN EN ISO 10993. V rámci experimentální práce byla nejdříve optimalizována metoda LC-MS pro kvalitativní a kvantitativní analýzu. Následně byly provedeny samotné extrakční experimenty (viz *obrázek 23*), které byly vhodně vyhodnoceny. Nakonec podle získaných výsledků byla posouzena vhodnost zubních kompozitů od firmy ADM, a.s. porovnáním s již komerčně dostupnými kompozity od firmy GC EUROPE N.V.



Obrázek 23: Grafický abstrakt k experimentální části práce

3.1 Použité přístroje a pomůcky

Analytické váhy HR–120–EC, a & D Instruments Ltd.

Přístroj pro přípravu Milli-Q vody Millipore QGARD, Academic

Ultrazvuková vodní lázeň Kraintek 5

pH metr InoLab WTW series, Nameko, ČR

Třepačka s vibračním pohybem (heidolph Vibramax 100)

Inkubátor Memmert IN, bez ventilátoru

běžné laboratorní sklo a další vybavení

Kapalinový chromatograf Agilent 1100 Series

- kolona: Luna® Omega Polar C18 Phenomenex, (100 x 2.1 mm; 3.0 µm)

Hmotnostní spektrometr Agilent Ion Trap 6320 LC/MS

Kapalinový chromatograf Agilent 1290 Infinity

- kolona: Luna® Omega Polar C18 Phenomenex, (100 x 2.1 mm; 1.6 µm)

Hmotnostní spektrometr BRUKER EVOQ LC-TQ

Generátor dusíku a vzduchu, Peak Scientific – Genius 3045

3.2 Použitý software pro zpracování a interpretaci dat

ChemStation for LC 3D Systems Rev. B.01.03–SR2

6300 Series TrapControl Version 6.2

6300 Series DataAnalysis Version 6.2

6300 Series QuantAnalysis Version 6.2

Bruker Compass HyStar version 5.1.8.1, Bruker Daltonik GmbH 2019

Bruker Daltonics MS Workstation version 8.2.1, Bruker Daltonik GmbH 2017

TASQ version 2.2.14 1533, Bruker Daltonik GmbH 2018

Microsoft Office Excel 365 ProPlus

Microsoft Office Word 365 ProPlus

3.3 Použité chemikálie a standardy

3.3.1 Chemikálie

Acetonitril – LC-MS Chromasolv® o čistotě $\geq 99,9$ %, VWR

Voda, HiPerSolv CHROMANORM® for LC-MS, suitable for UPLC, VWR

Kyselina mravenčí o čistotě ≥ 98 %, Sigma Aldrich

Milli-Q voda

Ethanol – LC-MS LiChrosolv® o čistotě $\geq 99,9$ %, Sigma Aldrich

Chlorid sodný o čistotě ≥ 99 %, Sigma Aldrich

Chlorid draselný o čistotě $\geq 99,5$ %, Lach:ner

Dihydrogen fosforečnan draselný o čistotě $\geq 99,9$ %, LACHEMA N.P. Brno

Hydrogenfosforečnan disodný dodekahydrát o čistotě ≥ 99 %, FLUKA

Hydroxid sodný o čistotě ≥ 98 %, Penta

Chlorid amonný o čistotě $\geq 99,5$ %, Penta

Chlorid hořečnatý hexahydrát o čistotě $\geq 99,0$ %, Penta

Chlorid vápenatý bezvodý o čistotě p.a., Fluka AG, Buchs SG

Dihydrogenfosforečnan draselný o čistotě $99,0$ %, Aldrich Chemical Co. Ltd.

Hydrogenfosforečnan didraselný o čistotě p.a., LACHEMA N.P. Brno

Kyselina citrónová monohydrát o čistotě $\geq 99,0$ %, Lach:ner

3.3.2 Standardy

DMAEMA (CAS No 2867–47–2) o čistotě 99 %, ABCR GmbH

HEMA (CAS No 868–77–9) o čistotě 99 %, ESSCHEM Europe

CQ (CAS No 10373–78–1) o čistotě 99 %, ESSCHEM Europe

TEGDMA (CAS No 109–16–0) o čistotě > 92 %, ESSCHEM Europe (certifikát čistoty $99,2$ %)

UDMA (CAS No 72869–86–4) o čistotě > 92 %, ESSCHEM Europe (certifikát čistoty $97,7$ %)

BisGMA (CAS No 1565–94–2) o čistotě > 85 %, ESSCHEM Europe (certifikát čistoty $98,0$ %)

BisEMA (CAS No 41637–38–1) o čistotě > 87 %, ESSCHEM Europe (certifikát čistoty $98,4$ %)

BHT (CAS No 128–37–0) o čistotě 99 %, Sigma Aldrich

BPA (CAS No 80–05–7) o čistotě ≥ 99 %, Sigma Aldrich

3.3.3 Plyny

Helium – 6.0 Linde gas a. s.

Argon – 5.0 SIAD Czech spol. s.r.o.

3.3.4 Vzorky zubních kompozitů

V rámci diplomové práce byly analyzovány látky uvolněné ze zubních kompozitů od firmy ADM, a.s. (**zatím komerčně nedostupné**, pod laboratorním označením **FD4X** a **FF6X**) a další již komerčně dostupné od výrobce GC EUROPE N.V. (**Ever X Flow** a **Ever X Posterior**). V obou případech jsou ZK tvořeny **polymerní maticí na bázi methakrylátů** (převážně konkrétně dimethakrylátů). Pro experimentální část byly připraveny pecičky zubních kompozitů válcovitého tvaru o šířce $6,57 \pm 0,05$ mm a výšce $1,8 \pm 0,2$ mm (o ploše jedné pecičky $106,0 \text{ mm}^2 \pm 3,0 \text{ mm}^2$).

Firma ADM, a.s. používá jako plnivo Nanocryl D 322, který obsahuje koloidní disperzi částic SiO_2 . Dále jsou v kompozitu sypká **plniva** na bázi skel, a velikost použitých částic je v rozmezí od 180 nm do 2 μm . Jako **výztuž** jsou použita anorganická mikrovlákná SiO_2 . Částice plniva i vlákna výztuže jsou povrchově upravena organosilanem.

Firma GC EUROPE N.V. má celou řadu zubních kompozitů, které se liší svým konkrétním složením, a tedy i svou indikací. Nicméně firma u obou analyzovaných komerčních kompozitů použila jako **plnivo** primárně barnatá skla a částice SiO_2 . Jako **výztuž** jsou použita skleněná vlákna E-skloviny. Částice plniva i vlákna výztuže jsou povrchově upravena organosilanem.

3.4 Příprava kalibračních roztoků

Ke kvantitativnímu stanovení jednotlivých uvolněných látek je využívána metoda externí kalibrace, z toho důvodu bylo nutné připravit směsné kalibrační roztoky těchto látek o známé koncentraci. V této kapitole je podrobně popsána příprava zásobních roztoků pro jednotlivé standardy a způsob přípravy směsných kalibračních roztoků.

3.4.1 Příprava zásobních roztoků jednotlivých standardů

Na analytických vahách bylo naváženo s přesností na 4 desetinná místa 10 mg jednotlivých standardů. Následně bylo vždy navážené množství analytu převedeno kvantitativně do odměrné baňky o objemu 10 ml a doplněno směsí acetonitrilu a UPLC vody (50:50) po rysku odměrné baňky (během přípravy roztoku BHT byl použit na doplnění po rysku pouze acetonitril). Obsah odměrné baňky byl vždy důkladně promíchán a byly získány roztoky o koncentraci 1 mg/ml (celkově 9 zásobních roztoků).

Z každého připraveného roztoku standardu o koncentraci 1 mg/ml bylo odpipetováno Hamiltonovou jehlou 100 μl do vialky o objemu 2,0 ml (ve vialce 900 μl , jelikož máme 9 standardů). Do vialky bylo napipetováno automatickou pipetou 100 μl UPLC vody, aby výsledný objem ve vialce byl 1 ml a výsledná koncentrace každého standardu 100 $\mu\text{g/ml}$ (směsný standard).

Následně z připraveného roztoku o koncentraci 100 $\mu\text{g/ml}$ bylo odpipetováno 50 μl do vialky o objemu 2,0 ml a dále bylo napipetováno 950 μl UPLC vody. Výsledná koncentrace každého standardu byla 5 $\mu\text{g/ml}$.

Následně z připraveného roztoku o koncentraci 5 µg/ml bylo odpipetováno 20 µl do vialky o objemu 2,0 ml a dále bylo napipetováno 980 µl UPLC vody. Výsledná koncentrace každého standardu byla 0,1 µg/ml.

3.4.2 Příprava směsných kalibračních roztoků

Z připravených zásobních roztoků standardů byly následně připraveny směsné kalibrační roztoky o koncentracích 2; 1; 0,75; 0,5; 0,4; 0,25; 0,1; 0,075; 0,050; 0,025; 0,01 a 0,005 µg/ml.

Ze zásobního roztoku o koncentraci 100 µg/ml byl připraven kalibrační roztok o koncentraci 2,0 µg/ml a 1,0 µg/ml. Kalibrační roztok o koncentraci 2,0 µg/ml byl připraven tak, že do vialky o objemu 2,0 ml bylo napipetováno 20 µl zásobního roztoku o koncentraci 100 µg/ml a následně 980 µl UPLC vody. Kalibrační roztok o koncentraci 1,0 µg/ml byl připraven tak, že do vialky o objemu 2,0 ml bylo napipetováno 10 µl zásobního roztoku o koncentraci 100 µg/ml a následně 990 µl UPLC vody.

Ze zásobního roztoku o koncentraci 5 µg/ml byl připraven kalibrační roztok o koncentraci 0,75 µg/ml; 0,5 µg/ml; 0,4 µg/ml; 0,25 µg/ml, 0,1 µg/ml, 0,075 µg/ml; a 0,05 µg/ml. Kalibrační roztok o koncentraci 0,75 µg/ml byl připraven tak, že do vialky o objemu 2,0 ml bylo napipetováno 150 µl zásobního roztoku o koncentraci 5 µg/ml a následně 850 µl UPLC vody. Kalibrační roztok o koncentraci 0,5 µg/ml byl připraven tak, že do vialky o objemu 2,0 ml bylo napipetováno 100 µl zásobního roztoku o koncentraci 5 µg/ml a následně 900 µl UPLC vody. Kalibrační roztok o koncentraci 0,4 µg/ml byl připraven tak, že do vialky o objemu 2,0 ml bylo napipetováno 80 µl zásobního roztoku o koncentraci 100 µg/ml a následně 920 µl UPLC vody. Kalibrační roztok o koncentraci 0,25 µg/ml byl připraven tak, že do vialky o objemu 2,0 ml bylo napipetováno 50 µl zásobního roztoku o koncentraci 100 µg/ml a následně 950 µl UPLC vody. Kalibrační roztok o koncentraci 0,1 µg/ml byl připraven tak, že do vialky o objemu 2,0 ml bylo napipetováno 20 µl zásobního roztoku o koncentraci 100 µg/ml a následně 980 µl UPLC vody. Kalibrační roztok o koncentraci 0,075 µg/ml byl připraven tak, že do vialky o objemu 2,0 ml bylo napipetováno 15 µl zásobního roztoku o koncentraci 100 µg/ml a následně 985 µl UPLC vody. Kalibrační roztok o koncentraci 0,05 µg/ml byl připraven tak, že do vialky o objemu 2,0 ml bylo napipetováno 10 µl zásobního roztoku o koncentraci 100 µg/ml a následně 990 µl UPLC vody.

Ze zásobního roztoku o koncentraci 0,1 µg/ml byl připraven kalibrační roztok o koncentraci 0,025 µg/ml; 0,010 µg/ml a 0,005 µg/ml. Kalibrační roztok o koncentraci 0,025 µg/ml byl připraven tak, že do vialky o objemu 2,0 ml bylo napipetováno 250 µl zásobního roztoku o koncentraci 0,1 µg/ml a následně 750 µl UPLC vody. Kalibrační roztok o koncentraci 0,010 µg/ml byl připraven tak, že do vialky o objemu 2,0 ml bylo napipetováno 100 µl zásobního roztoku o koncentraci 100 µg/ml a následně 900 µl UPLC vody. Kalibrační roztok o koncentraci 0,005 µg/ml byl připraven tak, že do vialky o objemu 2,0 ml bylo napipetováno 50 µl zásobního roztoku o koncentraci 100 µg/ml a následně 990 µl UPLC vody.

3.5 Příprava extrakčních medií

Látky ze zubních kompozitů byly uvolňovány do několika extrakčních medií (o různé extrakční síle), které mají za úkol napodobovat prostředí v ústní dutině. V rámci extrakčních pokusů byly použity následující extrakční média: H_2O , 100% EtOH, solný roztok fosfátem pufrovaný (PBS), citráto-fosfátový pufr (o různém pH) a solný roztok umělých slin.

3.5.1 Solný roztok fosfátem pufrovaný (PBS)

Na analytických vahách bylo naváženo s přesností na 4 desetinná místa 8,012 8 g NaCl; 0,204 4 g KCl, 0,245 7 g KH_2PO_4 a 1,80 3 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Tyto soli byly kvantitativně převedeny do odměrné baňky o objemu 1 000 ml a ta byla následně doplněna Milli-Q vodou až po rysku. Nakonec byla ověřena hodnota pH a případně upravena přidáním roztoku NaOH na hodnotu $\text{pH} = 7,4 \pm 0,1$.

3.5.2 Citráto-fosfátový pufr

Pro přípravu citráto-fosfátového pufru o pH 4,0 bylo na analytických vahách naváženo s přesností na 4 desetinná místa 5,525 0 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ a 2,582 9 g $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (kyseliny citrónové). Navážené látky byly kvantitativně převedeny do odměrné baňky o objemu 200 ml a ta byla následně doplněna Milli-Q vodou až po rysku. Nakonec byla ověřena hodnota pH a případně upravena přidáním $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ nebo kyseliny citrónové na hodnotu $\text{pH} = 4,0 \pm 0,1$.

Pro přípravu citráto-fosfátového pufru o pH 6,0 bylo na analytických vahách naváženo s přesností na 4 desetinná místa 9,460 0 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ a 1,420 0 g $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (kyseliny citrónové). Navážené látky byly kvantitativně převedeny do odměrné baňky o objemu 200 ml a ta byla následně doplněna Milli-Q vodou až po rysku. Nakonec byla ověřena hodnota pH a případně upravena přidáním $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ nebo kyseliny citrónové na hodnotu $\text{pH} = 6,0 \pm 0,1$.

Pro přípravu citráto-fosfátového pufru o pH 8,0 bylo na analytických vahách naváženo s přesností na 4 desetinná místa 13,925 9 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ a 0,120 0 g $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (kyseliny citrónové). Navážené látky byly kvantitativně převedeny do odměrné baňky o objemu 200 ml a ta byla následně doplněna Milli-Q vodou až po rysku. Nakonec byla ověřena hodnota pH a případně upravena přidáním $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ nebo kyseliny citrónové na hodnotu $\text{pH} = 8,0 \pm 0,1$.

3.5.3 Roztok umělých slin

Pro přípravu solného roztoku umělých slin (podle [243]) bylo na analytických vahách naváženo s přesností na 4 desetinná místa 0,308 2 g NaCl; 0,550 0 g KCl; 0,055 0 g CaCl_2 ; 0,020 0 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0,050 0 g NH_4Cl ; 0,250 0 g KH_2PO_4 a 0,350 0 g K_2HPO_4 . Tyto soli byly kvantitativně převedeny do odměrné baňky o objemu 500 ml a ta byla následně doplněna Milli-Q vodou až po rysku. Nakonec byla ověřena hodnota pH a případně upravena přidáním KH_2PO_4 nebo K_2HPO_4 na hodnotu $\text{pH} = 7,0 \pm 0,1$.

3.6 Podmínky a metody extrakce

Chemická charakterizace zdravotnického materiálu má dvě části, a to extrakci látek z materiálu a následnou analýzu těchto extrahovaných látek prostřednictvím **vhodné analytické metody**. Cílem extrakce je uvolnit stejné nebo vyšší množství látek, které by se uvolnilo během klinického používání zubního kompozitu. Extrakční studie, které využívají extrakční média vzdálená reálným podmínkám nejsou plně reprezentativní, proto je nutné zvolit vhodné **extrakční médium** a další podmínky jako je **dobu extrakce, teplota extrakčního média, poměr povrchu materiálu k objemu rozpouštědla**, ale také počet replikátů dané extrakce [196].

Dle normy 10993-12 je vhodné provádět extrakce s použitím polárních i nepolárních médií. Mezi doporučená extrakční média patří voda, fyziologický roztok a ethanol. Avšak na základě odborné literatury byly zvoleny i dalších extrakční média, a to konkrétně solný roztok umělých slin a citráto-fosfátový pufr o různém pH. Na základě normy a vědeckých článků bylo zvoleno množství extrakčního média 1 ml na 1 cm² zubního kompozitu [188, 196].

Podle normy 10993-12 byly provedeny extrakce **za míchání** při teplotě 37±1 °C po dobu 72±2 hodin a při teplotě 50±2 °C po dobu 72±2 hodin. Následně na základě zahraniční odborné literatury byla provedena kumulativní extrakce s výměnou extrakčního média po dalších 7 dnech (extrakční doba 10 dnů) a nakonec u některých vzorků ještě po dalších 20 dnech (celková extrakční doba 30 dnů). Norma 10993-18 doporučuje provedení extrakcí provedením tří replikátů, avšak nižší množství replikátů je také dostačující, čehož bylo využito v případě referenčního materiálu komerčních kompozitů, kde byly provedeny pouze 2 replikáty [196].

Jako vhodný referenční materiál pro extrakční experimenty byly zvoleny již komerčně dostupné zubních kompozity. Firma ADM, a.s. zvolila pro své zubní kompozity takové komerční zubní kompozity, která jsou takzvaně rovnocenné, tedy mají obdobné složení a stejnou indikaci (FD4X je rovnocenný materiálu Ever X Posterior a FF6X materiálu Ever X Flow). Což umožňuje posouzení vhodnosti nových zubních kompozitů pro dentální aplikace porovnáním množstvím uvolněných látek během extrakce. Jakožto vhodná analytická metoda pro stanovení těchto uvolněných látek ze zubních kompozitů bylo zvoleno LC-MS.

3.6.1 Příprava vzorků pro inkubaci

Při přípravě vzorků je postupováno podle *tabulky 22* (u zubního materiálu od firmy ADM, a.s. vždy 3 replikáty stejného experimentu, u referenčního materiálu vždy pouze 2 replikáty). Nejdříve byly fixem označeny prázdné vialky s víčkem o objemu 12,5 ml a následně byly zváženy na analytických vahách s přesností na 4 desetinná místa. Poté do těchto vialek byly umístěny vždy 2 pecičky zubního kompozitu (zkráceně ZK) a opět byly uzavřené vialky zváženy. Do těchto vialek bylo následně napipetováno automatickou pipetou extrakční prostředí konkrétně 2 ml (pouze v případě 100% ethanolu 2,5 ml), poté byly uzavřené vialky zváženy na analytických vahách.

Tabulka 22: Připravený záznamový arch pro zvážené hodnoty, včetně ukázky označení vialek

Označení vialky	Prostředí	Teplota [°C]	Prázdná vialka [g]	Vialka se ZK [g]	Vialka se ZK a rozpouštědlem [g]
1–3D	H ₂ O	37			
2–3D	H ₂ O	37			
3–3D	H ₂ O	37			
10–3D	H ₂ O	50			
11–3D	H ₂ O	50			
12–3D	H ₂ O	50			

3.6.2 Inkubace vzorků

Označené vialky se ZK a extrakčním prostředím byly poté umístěny na třepačku s vibračním pohybem (frekvence třepání 600 rpm) a třepačka byla spolu se vzorky vložena do inkubátoru (viz *obrázek 24*), který je vyhříván na 37 ± 1 °C (druhá řada vzorků za teploty 50 ± 2 °C) po dobu 3 dnů (při dalších extrakcích po dobu 10 až 30 dnů).



Obrázek 24: Třepačka se vzorky v sušárně během inkubace

3.6.3 Předúprava a ředění vzorku před analýzou

Tyto vzorky byly po 3 dnech (při dalších extrakcích po 10 a 30 dnech) vyjmuty z inkubátoru a ponechány zchladnout na laboratorní teplotu a následně byly opět zváženy na analytických vahách s přesností na 4 desetinná místa (kvůli případnému úniku rozpouštědla z vialky). Poté byly připraveny plastové injekční stříkačky o objemu 2 ml, na které byl nasazen nylonový filtr (0,22 μm , Chromservis). Nejdříve byly extrakční roztoky nabrány Pasteurovou pipetou a byly řádně omyty stěny vialky, poté byl roztok napipetován do injekční stříkačky a byl přefiltrován do vialek o objemu 2,0 ml (viz *obrázek 25 A*). Tyto roztoky/vzorky byly v případě potřeby dodatečně naředěny 10x, 100x až 1 000x a vloženy do autosampleru pro okamžitou kvantitativní analýzu uvolněných látek pomocí metody LC-MS/MS (viz kapitola 3.6.6). Mimo jiné byly nenaředěné vzorky podrobeny kvalitativní analýze uvolněných látek pomocí metody LC-MS (viz kapitola 3.6.5).



Obrázek 25: A) Filtrace vzorku před analýzou, B) Sušení peciček ZK na filtračním papíře

3.6.4 Kumulativní extrakce látek

Po přefiltrování a naředění extraktů zubních kompozitů, byly pecičky zubních kompozitů vyjmuty pinzetou z vialek o objemu 12,5 ml a byly osušeny na filtračním papíru za laboratorní teploty (viz *obrázek 25 B*). Po jejich usušení bylo pokračováno znovu podle kapitoly 3.6.1. Druhá extrakce probíhala dalších 7 dnů (v součtu tedy doba extrakce 3+7=10 dnů) a poté u některých vzorků ještě třetí extrakce dalších 20 dnů (v součtu tedy doba extrakce 3+7+20=30 dnů).

Jelikož je pokračováno znovu podle kapitoly 3.6.1, tak jsou znovu zváženy prázdné vialky a znovu ve vialce pecičky zubních kompozitů po extrakci (rozdíl hmotností peciček zubních kompozitů před extrakcí a po extrakci je roven úbytku hmotnosti po 3, 10 a 30 dnech extrakce).

Naměřené hodnoty uvolněných látek ze ZK prostřednictvím LC-MS/MS jsou zpracovány kumulativním způsobem, tzn. množství uvolněných látek po 10 dnech je rovno součtu množství látek z 1. extrakce (doba extrakce 3 dny) a z 2. extrakce (extrakce po dobu dalších 7 dnů) a množství uvolněných látek po 30 dnech je rovno součtu množství látek z 1. extrakce, z 2. extrakce a závěrečné 3. extrakce (extrakce po dobu dalších 20 dnů).

3.6.5 Kvalitativní analýza uvolněných látek ze zubních kompozitů

Jako vhodná analytická metoda pro kvalitativní stanovení uvolněných látek ze zubních kompozitů (monomerů, látek fotoiniciačního systému, degradačních produktů, **oligomerů**, ...) byla vybrána metoda HPLC-ESI-IT pracující ve full-scanu. Použitý kapalinový chromatograf a hmotnostní spektrometr je zobrazen na obrázku 26. Pro kvalitativní analýzu těchto látek byla použita nově vytvořená metoda (optimalizace viz kapitola 4.1), jejíž parametry na kapalinovém chromatografu a na iontové pasti byly nastaveny podle *tabulky 24*.



Obrázek 26: Kapalinový chromatograf Agilent 1100 Series s hmotnostním spektrometrem Agilent 6320 Series Ion Trap LC/MS

Tabulka 24: Optimalizovaná metoda HPLC-ESI-IT pro kvalitativní analýzu uvolněných látek ze ZK

HPLC parametry			MS parametry	
nástřik vzorku	7 μl		tlak zmlžovacího plynu	25 psi
průtok MF	0,22 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$		průtok sušícího plynu	12 $\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$
teplota kolony	30 $^{\circ}\text{C}$		teplota sušícího plynu	350 $^{\circ}\text{C}$
mobilní fáze	A: 0,01M HCOOH v MQ		ionizační mód (polarita)	ESI+
	B: Acetonitril		rozsah full-scanu	50–1 000
gradient mobilní fáze	t [min]	mód		
	0,0	10		
	1,5	10		
	2,0	30		
	5,0	50		
	10,0	60		
	26,0	90		
	26,5	10		
STOP time	27,0 minut			
POST time	8,0 minut			

3.6.6 Kvantitativní stanovení uvolněných látek ze zubních kompozitů

Jako vhodná analytická metoda pro kvantitativní analýzu uvolněných látek ze ZK byla zvolena metoda UPLC-ESI-TQ. Použitý kapalinový chromatograf a hmotnostní spektrometr je zobrazen na *obrázku 27*. Pro kvantitativní analýzu byla použita nově vytvořená metoda (optimalizace viz kapitola 4.1 a 4.2), jejíž parametry na kapalinovém chromatografu a hmotnostním spektrometru byly nastaveny podle *tabulky 24 až tabulky 26*.



Obrázek 27: Kapalinový chromatograf Agilent 1290 Infinity s hmotnostním spektrometrem Bruker EVOQ LC-TQ

Tabulka 24: Optimalizovaná metoda UPLC-ESI-TQ – parametry UPLC

UPLC parametry		
nástřik vzorku	7 μ l	
průtok MF	0,35 ml·min ⁻¹	
teplota kolony	30 °C	
mobilní fáze	A: 0,1 % HCOOH v MQ	
	B: Acetonitril	
gradient mobilní fáze	t [min]	B [%]
	0,0	10
	0,5	10
	1,0	35
	2,5	60
	3,5	60
	11,0	75
	12,0	75
	12,9	10
STOP time	13,0 minut	
POST time	1,5 minuty	

Tabulka 25: Optimalizovaná metoda UPLC-ESI-TQ – parametry ESI

Parametry ESI	
iontový zdroj	elektrosprej (HESI)
napětí elektrospreje	4 515 V
ionizační mód (polarita)	pozitivní (ESI+)
průtok pomocného plynu	20
teplota pomocného plynu	350 °C
průtok sušícího plynu	50
teplota sušícího plynu	300 °C
zmlžovací plyn	50
aktivní odtah	ON
režim scanu	MRM
tlak kolizního plynu	1,5 mTorr

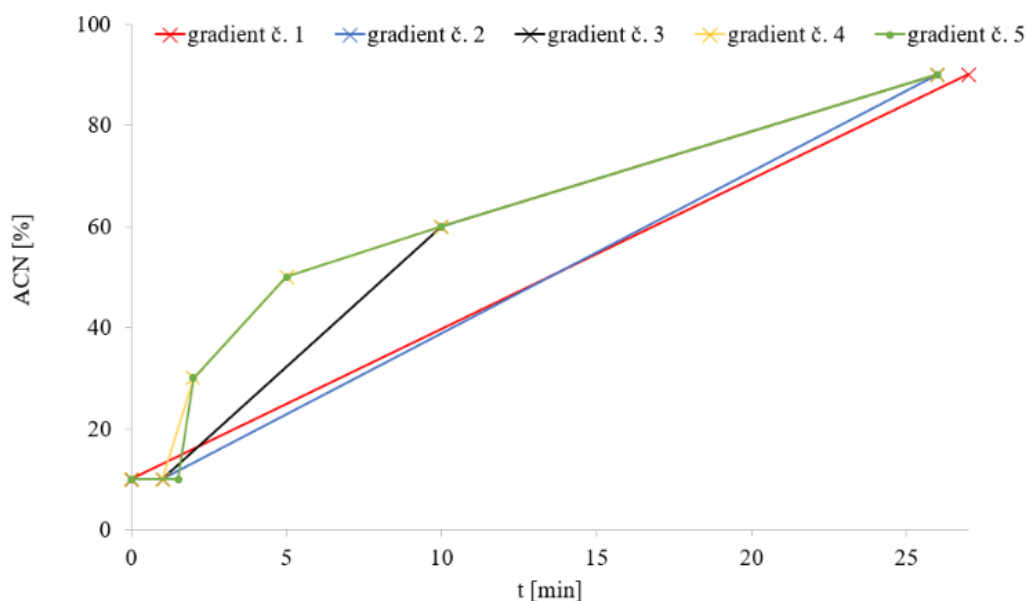
Tabulka 26: Optimalizovaná metoda UPLC-ESI-TQ – parametry MRM přechodů

Parametry MRM přechodů									
látko	retenční čas [min]	kvantitativní přechod			kvalitativní přechod			poměr iontů	doba skenu [ms]
		prekurzor [m/z]	produkt [m/z]	kolizní energie [eV]	prekurzor [m/z]	produkt [m/z]	kolizní energie [eV]		
DMAEMA	1,30	158,1	113,1	7,5	158,1	72,3	7,5	0,843	200,0
HEMA	2,25	131,1	113,1	2,5	131,1	69,3	2,5	0,841	200,0
CQ	3,60	167,0	167,0	0,1	167,0	139,0	5,0	0,109	200,0
TEGDMA	3,90	287,0	113,1	2,5	287,0	69,2	30,0	0,118	200,0
UDMA	5,20	471,4	113,1	10,0	471,4	341,4	2,5	0,049	200,0
BisGMA	6,00	530,0	142,9	20,0	530,0	277,2	10,0	0,362	200,0
BisEMA-5	9,90	602,3	113,1	15,0	602,3	113,1	15,0	0,268	133,5
BisEMA-4	10,20	558,2	113,1	20,0	558,2	291,2	20,0	0,450	133,5
BisEMA-3	10,50	514,2	113,1	15,0	514,2	247,1	10,0	0,528	133,5
BisEMA-2	10,90	470,1	113,1	15,0	470,1	247,1	10,0	0,248	133,5

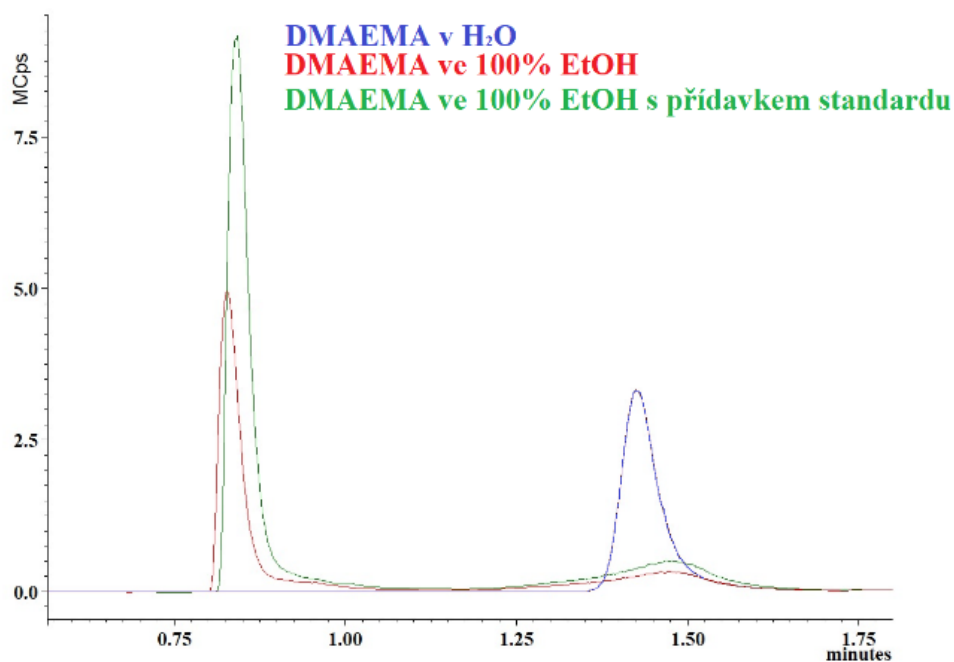
4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Optimalizace chromatografických podmínek

Vývoj chromatografické metody pro HPLC a UPLC probíhal obdobně, na základě dostupné vědecké literatury (viz kapitola 2.13) byla jako stacionární fáze použita dostupná kolona Luna Polar C18 o různé velikosti částic pro HPLC a UPLC. Jako mobilní fáze byla zvolena 0,1% kyselina mravenčí a acetonitril. V průběhu optimalizace gradientu byl měněn podíl složek A (0,1% HCOOH) a B (ACN) v závislosti na čase (viz *obrázek 28*, úprava gradientu pro HPLC, obdobně bylo postupováno pro UPLC), a to s ohledem na retenční čas analyzovaných látek (k optimalizaci metody byl nastříkovan na kolonu směsný standard o koncentraci 1 µg/ml).



Obrázek 28: Optimalizace gradientu mobilní fáze



Obrázek 29: Ethanol chromatogram DMAEMA

Pozvolný **gradient č. 1** (nárůst ACN o 3 % za minutu, viz *obrázek 28*) odpovídá běžnému gradientu mobilní fáze nastavenému při primárním screeningu separace většiny analytů. Avšak kvůli vysoké podobnosti vlastností monomerů BisEMA je zvolen gradient časově delší než obvykle, čímž je zpomalen procentuální nárůst ACN a zvýšena účinnost separace těchto monomerů. **Gradient č. 2** byl upraven vložení izokratického kroku (MF o složení 10 % acetonitrilu po dobu první minuty), tak aby nedocházelo k eluci analytů v mrtvém čase. **Gradient č. 3** byl upraven vložení kroku, tak aby došlo ke zlepšení separace monomerů BisEMA (od 10. minuty nárůst ACN pouze o 1,875 % za minutu). **Gradient č. 4** byl upraven, tak aby došlo ke zlepšení separace i více polárních látek ve středu chromatogramu u kterých docházelo k jejich koeluci. **Gradient č. 5** byl upraven prodloužením izokratického gradientu, jelikož DMAEMA byla eluována příliš blízko mrtvému času.

Látky ze zubních kompozitů byly extrahovány do různých extrakčních médií. Problém se vyskytnul pouze u 100% ethanolu, jelikož je silnějším elučním činidlem (oproti mobilní fázi v době nástřiku vzorku), a proto docházelo při nástřiku k deformaci tvaru prvního píku chromatogramu, konkrétně analytu DMAEMA (viz *obrázek 29*), proto v případě potřeby byly integrovány oba píky, jakožto suma ke kvantifikaci DMAEMA. Tato deformace tvaru píku již není pozorována při 10x naředění vzorků 100% ethanolu, jelikož poklesne jeho eluční síla oproti mobilní fázi.

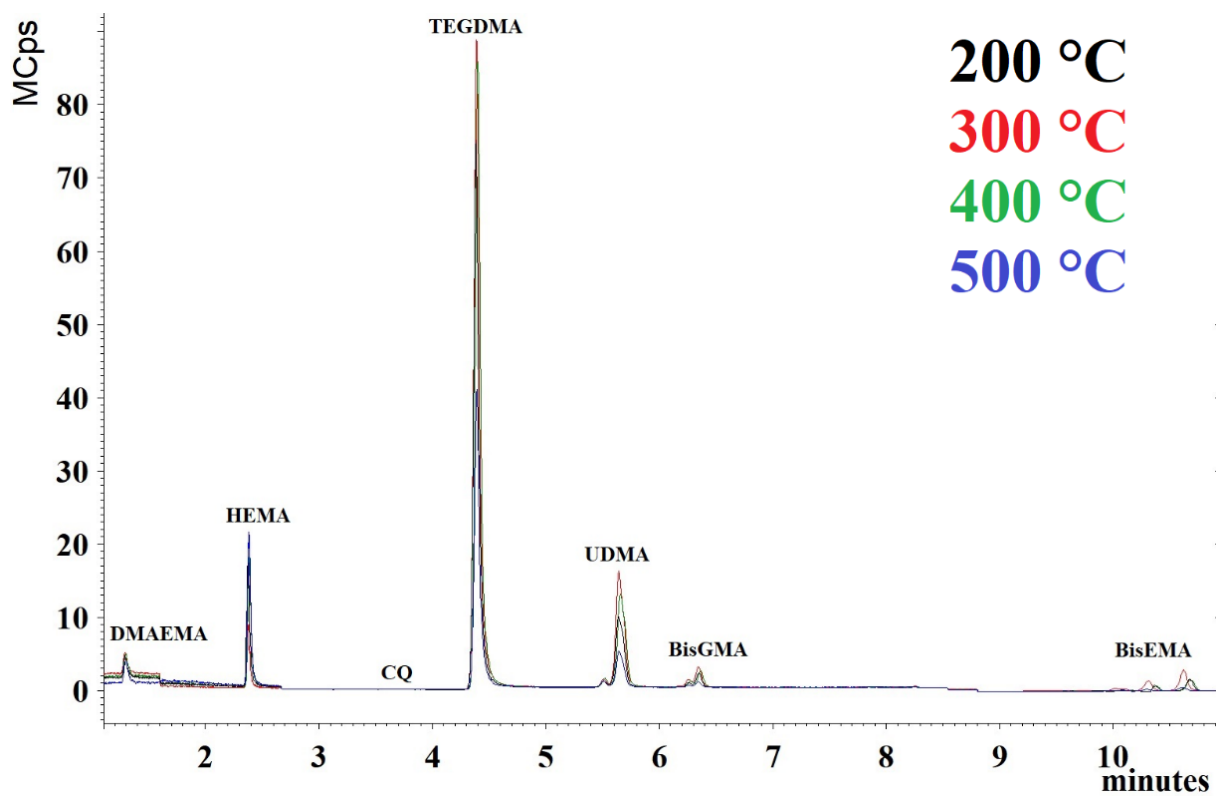
4.2 Optimalizace MS

4.2.1 Kvalitativní analýza

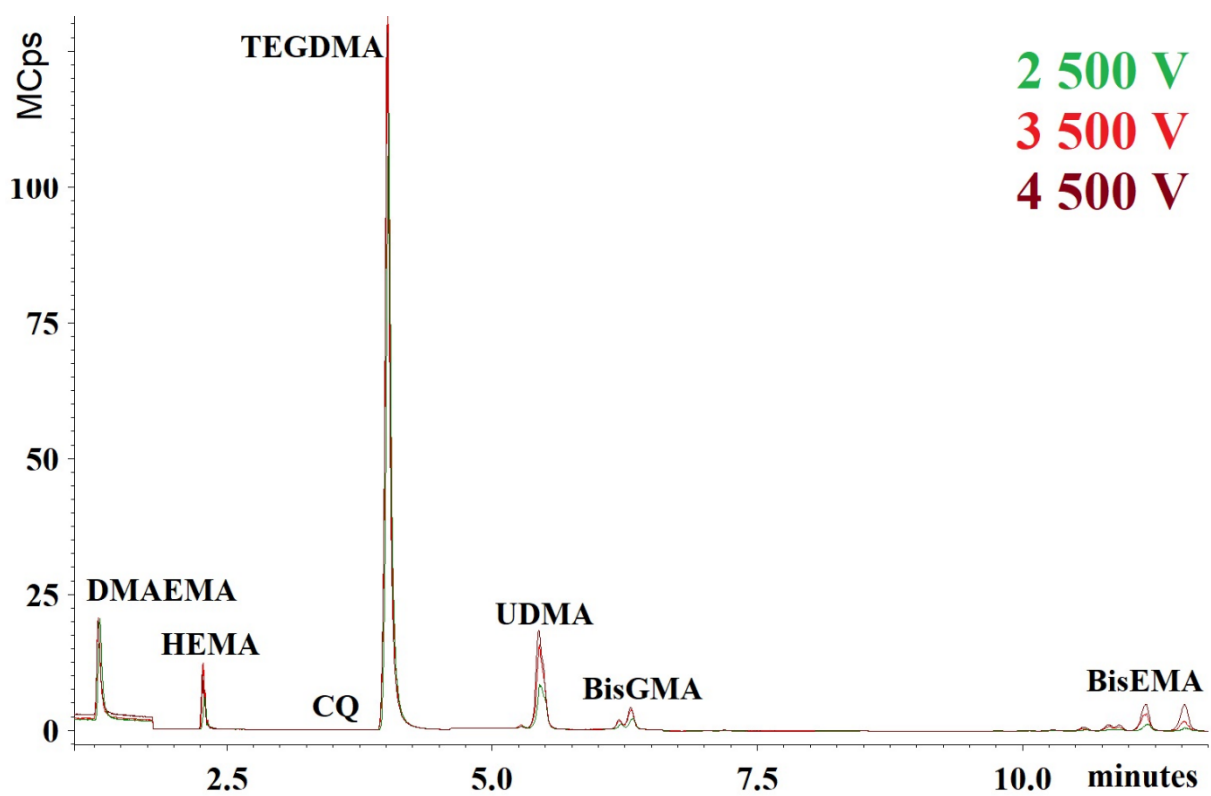
Pro kvalitativní analýzu uvolněných látek ze zubních kompozitů byly použity běžně využívané parametry na iontové pasti (viz *tabulka 24*). Jen byl zvolen vhodný skenovací rozsah hmot m/z , jelikož cílem kvalitativní analýzy je sken všech uvolněných látek ze zubních kompozitů do extrakčního média. Další parametry nebyly změněny, jelikož optimalizací může dojít ke zvýšení intenzity některých látek, ale může naopak dojít ke snížení intenzit jiných látek, proto byly ponechány doporučené parametry, které jsou běžně využívány na daném přístroji.

4.2.2 Kvantitativní analýza

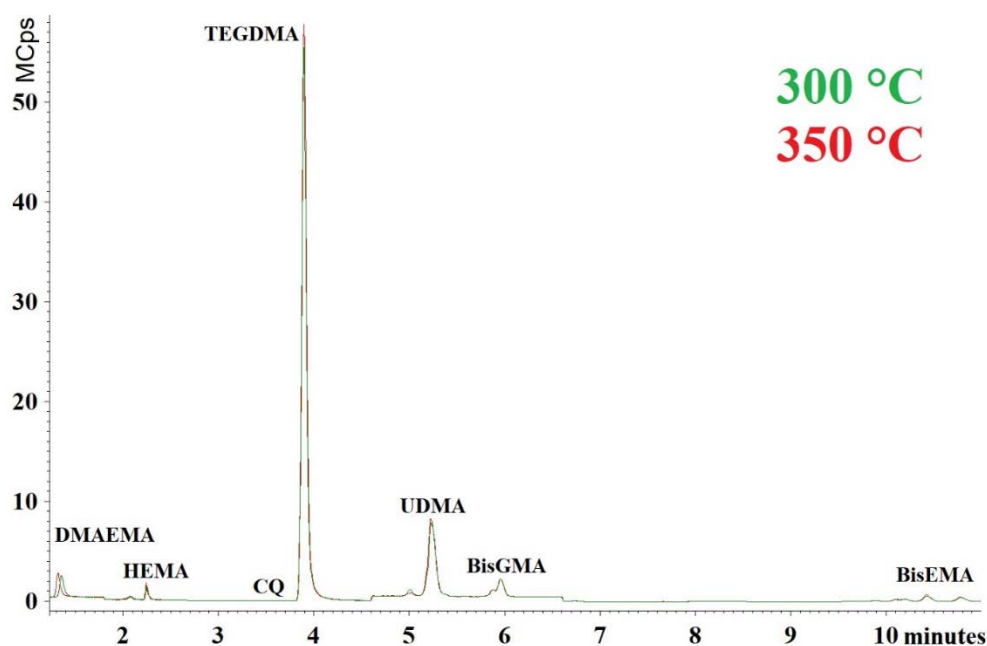
V rámci optimalizace MS/MS byla nejdříve optimalizována metoda v SIM módu, kde byly měněny parametry ESI, viz výsledné parametry *tabulka 25*. Cílem této optimalizace bylo vytvoření metody, která má co nejvyšší intenzity jednotlivých látek (respektive prekurzorů pro MRM mód). Nejdříve byl vyzkoušen vliv různých teplot sušícího plynu na intenzitu jednotlivých píků (viz *obrázek 30*), na základě čehož byla zvolena teplota 300 °C. Následně byl vyzkoušen vliv různých napětí na elektrospreji na intenzitu jednotlivých píků (viz *obrázek 31*), na základě čehož bylo zvoleno napětí 4 500 V. Poté byl vyzkoušen vliv různých teplot pomocného plynu na intenzitu jednotlivých píků (viz *obrázek 32*), v tomto případě byl rozdíl zanedbatelný, proto byla ponechána hodnota 350 °C, což je výchozí hodnota. Co se týče průtoků jednotlivých plynů a jejich teplot (zmlžovacího, sušícího a pomocného), tak také byly ponechány na výchozí hodnotě (obecně tyto plyny napomáhají tvorbě kapének, redukcí jejich velikosti, a tedy přechodu iontů do plynné fáze). Aktivní odtah byl ponechán zapnutý, jelikož eliminuje recirkulaci zmlžovacího plynu a tím udržuje systém čistější a zvyšuje tak robustnost iontového zdroje.



Obrázek 30: Optimalizace teploty sušícího plynu

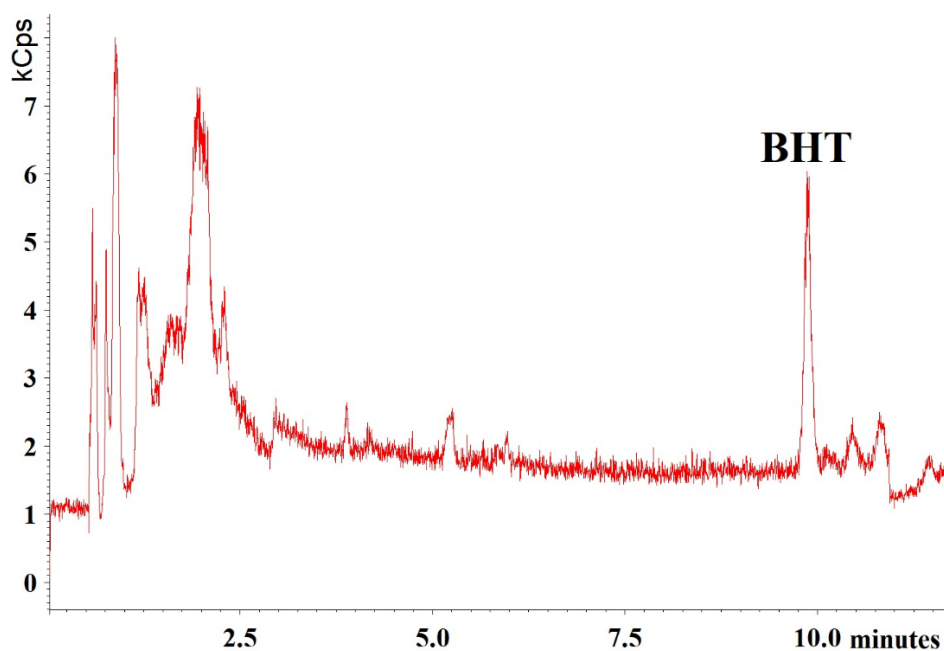


Obrázek 31: Optimalizace hodnoty napětí ESI



Obrázek 32: Optimalizace teploty pomocného plynu

Metodu SIM se podařilo optimalizovat úspěšně v pozitivním módu (analýza: DMAEMA, HEMA, CQ, TEGDMA, UDMA, BisGMA a BisEMA). Nicméně se nepodařilo optimalizovat metodu pro negativní mód, ve kterém měly být analyzovány látky BHT a BPA (viz *obrázek 33*). Tyto látky nebyly detekovatelné ani při odlišných parametrech iontového zdroje. Látka BHT má velmi nízkou intenzitu i při koncentraci 1 µg/ml a látku BPA se nepodařilo detekovat bohužel vůbec. Tyto látky nebyly detekovatelné, jelikož jsou značně nepolární a nedochází k jejich ionizaci prostřednictvím ESI, což by bylo pravděpodobně možné vyřešit použitím jiného iontového zdroje, konkrétně APCI, tak jako ve studii [244, 245] nebo použitím GC-MS, jako ve studii [246, 247]. Z tohoto důvodu nebylo možné v rámci diplomové práce kvantifikovat množství uvolněného BHT a BPA.



Obrázek 33: Chromatogram měřený v negativním módu

Z tohoto důvodu bylo dále pokračováno pouze ve tvorbě MRM metody pro pozitivní mód. V rámci optimalizace MRM byly použity vhodné prekurzory, jejichž intenzita byla optimalizována zvolením vhodných parametrů ESI. Za účelem zvolení vhodných kvantitativních a kvalitativních iontů byla provedena řada experimentů, kdy byly prekurzorové ionty štěpeny různými kolizními energiemi v rozsahu 0,1 až 40,0 eV a byl skenován vhodný rozsah produktových iontů. Následně na základě dostupných údajů a provedených experimentů byly zvoleny kvantitativní a kvalitativní ionty a také vhodné kolizní energie tak, aby byla intenzita těchto iontů co nejvyšší. Optimalizované parametry přechodů metody MRM je možné vidět v *tabulce 26*.

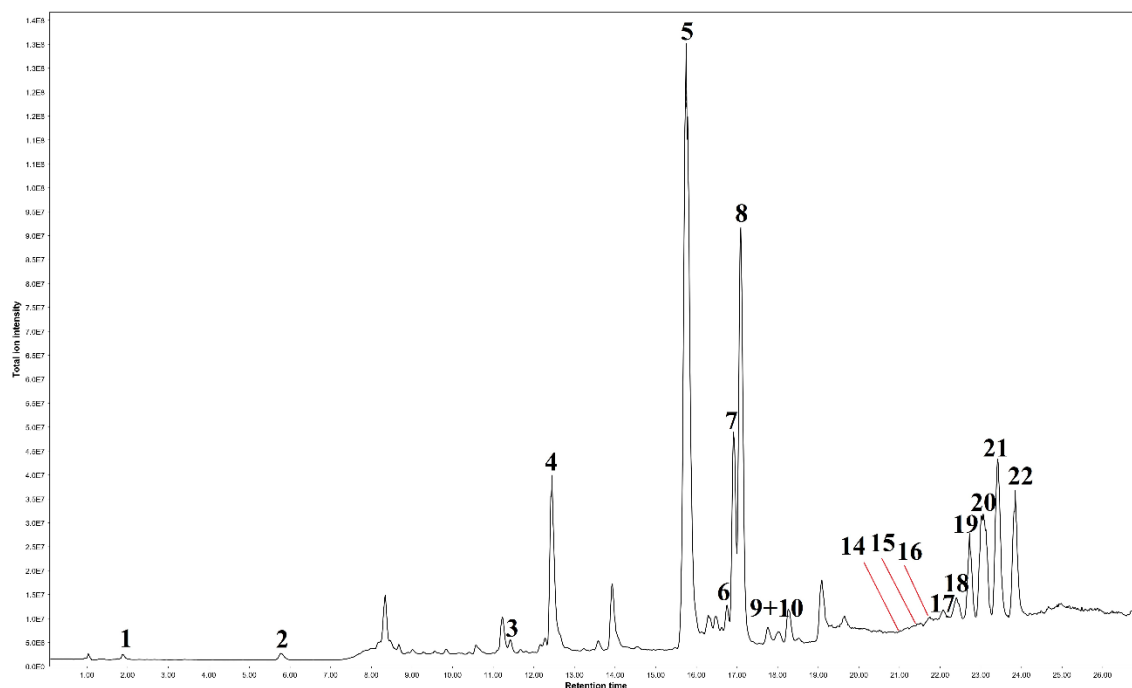
4.3 Kvalitativní analýza látek uvolněných ze zubních kompozitů

Vzhledem k množství izomerů u analyzovaných látek byla nejdříve provedena kvalitativní analýza směsného standardu o koncentraci 1 µg/ml. V tomto standardu byly identifikovány jednotlivé látky včetně jejich izomerů (v případě úspěšné separace), viz *tabulka 27* a *obrázek 34*. Jak již bylo zmíněno v kapitole 4.4.2, tak látky BHT a BPA jsou ionizovány v negativním módu a vzhledem k jejich vlastnostem jsou špatně ionizovatelné prostřednictvím elektrospreje, proto je nebylo možné detekovat na dostupných přístrojích.

Tabulka 27: Přehled látek ve směsném standardu a vzorcích

Číslo píku	Látka	RT [min]	Typ aduktu	<i>m/z</i> ve scanu	<i>m/z</i> produktů v MS/MS ¹⁰
1	DMAEMA	1,9	[M+H] ⁺	158,1	113,1; 72,5; 69,5
2	HEMA	5,9	[M+H-H ₂ O] ⁺	113,1	69,4
3	CQ	11,5	[M+H] ⁺	167,1	139,1; 125,1; 95,3; 83,2; 69,6
4	TEGDMA	12,5	[M+H] ⁺ ; [M+NH ₄] ⁺	287,0; 304,4;	287,0; 222,9; 113,1; 69,6
5	UDMA	15,6	[M+H] ⁺ ; [M+Na] ⁺ ; [M+H] ⁺	471,1 ; 493,1	385,1; 341,0; 255,1; 113,1; 69,6
6–8	BisGMA-A	16,6–17,0	[M+H] ⁺ ; [M+NH ₄] ⁺ ; [M+Na] ⁺ ; [M+H-H ₂ O] ⁺	513,1; 530,1 ; 535,1; 495,1	513,1; 495,1; 427,1; 277,0; 259,0; 172,9 143,1; 69,0
9–10	BisGMA-B (iso-BisGMA)	17,9–18,1	[M+NH ₄] ⁺ ; [M+Na] ⁺ ; [M+H-H ₂ O] ⁺	530,1; 535,1 ; 495,1	495,5; 276,9; 173,5; 142,9; 134,9; 69,4
11	BisEMA-13	20,3	[M+NH ₄] ⁺	954,6	–
12	BisEMA-12	20,6	[M+NH ₄] ⁺	910,5	–
13	BisEMA-11	20,8	[M+NH ₄] ⁺	866,5	–
14	BisEMA-10	21,2	[M+NH ₄] ⁺ ; [M+Na] ⁺	822,5; 827,5	–
15	BisEMA-9	21,4	[M+NH ₄] ⁺ ; [M+Na] ⁺	778,4; 783,4	–
16	BisEMA-8	21,7	[M+NH ₄] ⁺ ; [M+Na] ⁺	734,5 ; 739,4	467,1; 423,1; 379,1; 335,0; 291,0
17	BisEMA-7	22,0	[M+NH ₄] ⁺ ; [M+Na] ⁺	690,4 ; 695,3	423,1; 379,1; 335,1; 291,0
18	BisEMA-6	22,4	[M+NH ₄] ⁺ ; [M+Na] ⁺	646,4 ; 651,3	379,1; 335,0; 291,0; 246,9
19	BisEMA-5	22,7	[M+NH ₄] ⁺ ; [M+Na] ⁺	602,3 ; 607,3	379,3; 335,1; 291,2; 247,2; 113,1; 69,5
20	BisEMA-4	23,1	[M+NH ₄] ⁺ ; [M+Na] ⁺	558,2 ; 563,2	541,0; 335,0; 291,0; 247,0; 113,1; 69,5
21	BisEMA-3	23,4	[M+NH ₄] ⁺ ; [M+Na] ⁺	514,2 ; 519,1	291,0; 247,1; 113,1; 69,5
22	BisEMA-2	23,8	[M+H] ⁺ ; [M+NH ₄] ⁺ ; [M+Na] ⁺	453,1; 470,1 ; 475,1	453,0; 247,0; 113,1; 69,5

¹⁰ Jako prekursorzy byly použity tučně zvýrazněné ionty ze sloupce: *m/z* ve scanu



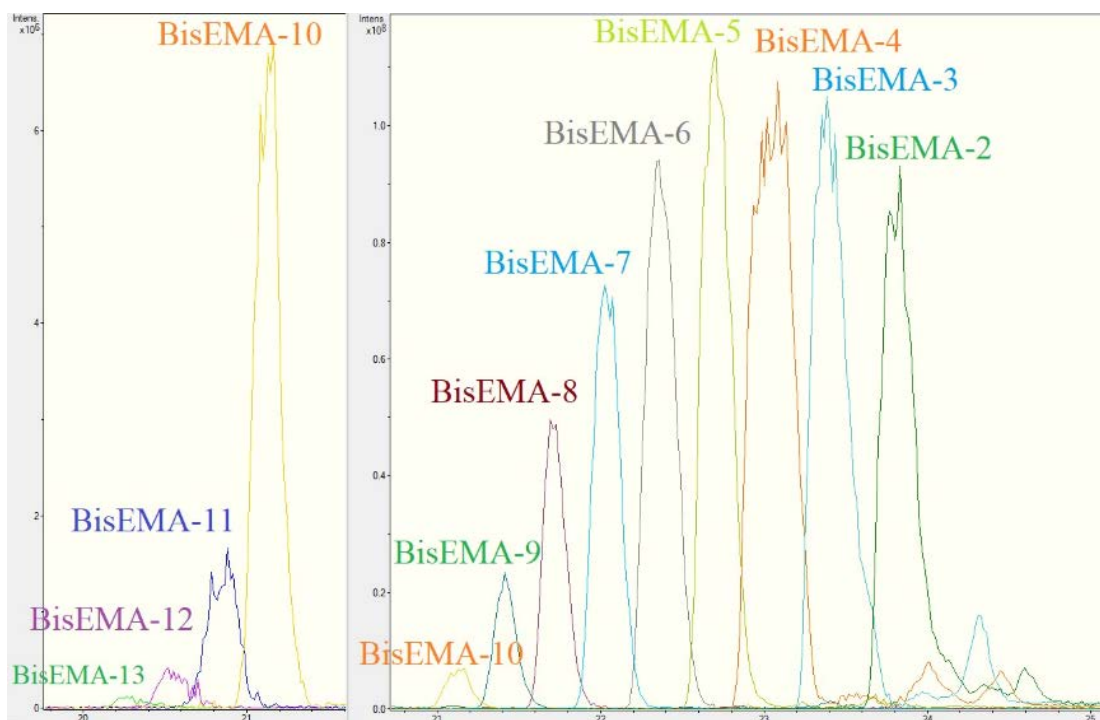
Obrázek 34: TIC chromatogram směsného standardu o koncentraci 1 µg/ml s označenými píky podle tabulky 27

Prostřednictvím kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí se podařilo úspěšně detekovat DMAEMA, HEMA, CQ, TEGDMA, UDMA, BisGMA a BisEMA (viz obrázek 34). Bohužel nebylo možné vzhledem k vlastnostem látek stanovit BPA a BHT, jelikož jsou prostřednictvím elektrospreje těžko ionizovatelné.

U stanovitelných látek souhlasily m/z podle literatury až na výjimku monomeru HEMA, který již ve scanu poskytoval m/z 113 (místo m/z 131 nebo 153), což je pravděpodobně způsobeno ionizací elektrospreje u iontové pasti (avšak u TQ byly detekované m/z 131 a 153 v souladu s literaturou [96, 97]). Efektivní hmotnost m/z 113 vzniká odštěpením molekuly H_2O z monomeru HEMA a podle literatury je typickým fragmentem $CH_2=C(CH_3)CO_2CH_2CH_2^+$ i ostatních monomerů na bázi methakrylátů.

Tak jako v odborné literatuře, tak i v rámci diplomové práce nebyly separovány stereoizomery CQ (avšak na separaci stereoizomerů jsou obvykle využívány chirální kolony). Také nebyl ve standardu detekován druhý typ monomeru UDMA, který má vyšší M_w a odlišný strukturní vzorec, na rozdíl od studie [150], kde používaly oba typy monomeru UDMA.

Avšak byly detekovány strukturní izomery monomeru BisGMA, které se podařilo i separovat. Dříve eluovaný a značně intenzivnější pík (RT 17,0 min) náleží monomeru BisGMA-A a později eluovaný pík (RT 18,1 min) náleží BisGMA-B (neboli iso-BisGMA, což je v souladu se studií [113]). Relativní zastoupení (podle výšek píků) izomerů BisGMA bylo 1:0,05 v komerčním standardu monomeru BisGMA. Druhý izomer BisGMA-B (podle tabulky 27 látka č. 9–10) nebyl detekován při extrakci látek ze zubních kompozitů do H_2O ani do PBS (kvůli obecně nízké eluci monomeru BisGMA do těchto extrakčních prostředí). Avšak byl detekován při extrakci látek ze zubních kompozitů do 100% EtOH, jak u zubních kompozitů od firmy ADM, a.s. tak i u těch od firmy GC EUROPE N.V. Poměr BisGMA izomerů ve 100% EtOH byl 1:0,4 až 1:0,6.



Obrázek 35: EIC chromatogram ukazující BisEMA-2 až BisEMA-13 uvolněné do 100% ethanolu ze vzorku FD4X

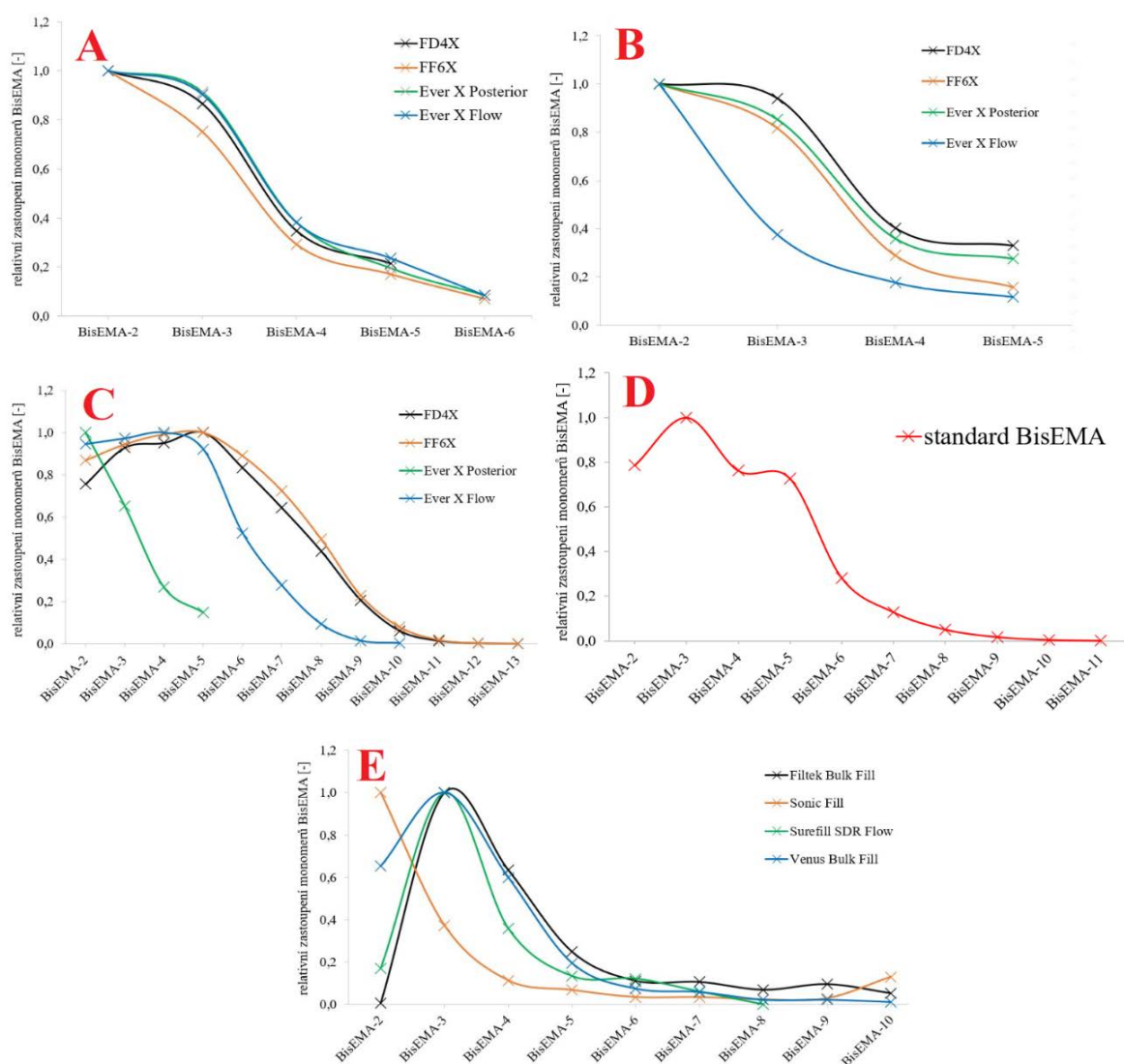
Ve standardu BisEMA od firmy ESSCHEM Europe, který byl poskytnut firmou ADM, a.s. a zároveň ve jmenované firmě byl použit pro přípravu peciček zubních kompozitů podle kvalitativní analýzy prostřednictvím HPLC-ESI-IT obsahuje monomery BisEMA-2 až BisEMA-13 (viz obrázek 35), což je v souladu s literaturou [113, 116] (ve článku [175] se prostřednictvím CE dokonce podařilo rozlišit v čistém standardu monomer BisEMA-2 až BisEMA-30). I přesto, že každý monomer BisEMA se může potenciálně ještě vyskytovat ve formě různých strukturních izomerů (viz kapitola 2.9), tak tato naměřená chromatografická data nepotvrzují, jelikož obdobně jako ve studii [172], nebyly jednotlivé monomery dostatečně separovány.

Porovnáním jednotlivých grafů na obrázku 36, je patrné, že monomery BisEMA mají jiné relativní zastoupení ve standardu než v extrakčních médiích. Ve standardu má nejvyšší zastoupení monomer BisEMA-3 a BisEMA-2, ostatním monomerům klesá intenzita s rostoucím stupněm ethoxylace $m+n$.

Relativní zastoupení jednotlivých homologů monomeru BisEMA je obdobné při extrakci látek z testovaných zubních kompozitů do H_2O a PBS (viz obrázek 36), kam není uvolňováno vysoké množství monomeru BisEMA na rozdíl od množství do 100% EtOH (viz kapitoly 4.4 s výsledky). Do H_2O a PBS jsou nejvíce uvolňovány krátké řetězce monomeru BisEMA, konkrétně BisEMA-2 a BisEMA-3 a s klesající intenzitou pro rostoucí $m+n$ (BisEMA-7 již není detekována v H_2O ani v PBS), což je pravděpodobně způsobeno tím, že H_2O ani PBS nedokážou dostatečně nabobtnat polymerní síť, což by umožnilo efektivní eluci i delších řetězců monomeru BisEMA (horší difuze kvůli sterickým vlivům se významně projevuje již u kratších homologů monomeru BisEMA).

Naopak ve 100% EtOH (viz *obrázek 36*), jako extrakčním médiu má nejvyšší relativní zastoupení monomer BisEMA-5, ale intenzity BisEMA-2 až BisEMA-6 jsou také relativně vysoké. Ostatním homologům klesá intenzita s rostoucím $m+n > 7$ (detekovatelný je dokonce i monomer BisEMA-13), což je pravděpodobně způsobeno tím, že ethanol dokáže dostatečně nabotnat polymerní síť a umožňuje tak efektivní eluci až po monomer BisEMA-6, ale řetězec monomeru BisEMA-7 a větší jsou již pravděpodobně příliš dlouhé (horší difuze kvůli sterickým vlivům, které se významněji projevují až při vyšším stupni ethoxylace), ale také se vyskytují v nižší koncentraci (viz *obrázek 34*).

Avšak podle vědecké studie [175] (viz *obrázek 36*) má nejvyšší relativní zastoupení monomer BisEMA-2 a BisEMA-3. Ostatním homologům monomeru klesá intenzita s rostoucím $m+n$. Rozdíl grafu E oproti grafu D může být způsoben odlišnými zubními kompozity, které byly podrobeny extrakci, ale hlavní roli představovalo pravděpodobně použití pouze 75% EtOH (oproti 100% EtOH v případě DP). Nižší koncentrace EtOH v extrakčním médiu může způsobit menší nabotnutí polymerní sítě a tím i horší eluci delších homologů monomeru BisEMA.



Obrázek 36: Relativní zastoupení jednotlivých monomerů BisEMA: A) Extrakční médium H_2O , B) Extrakční médium PBS, C) Standard monomerů BisEMA D) Extrakční médium 100% EtOH, E) Extrakční médium 75% EtOH ze studie [175]

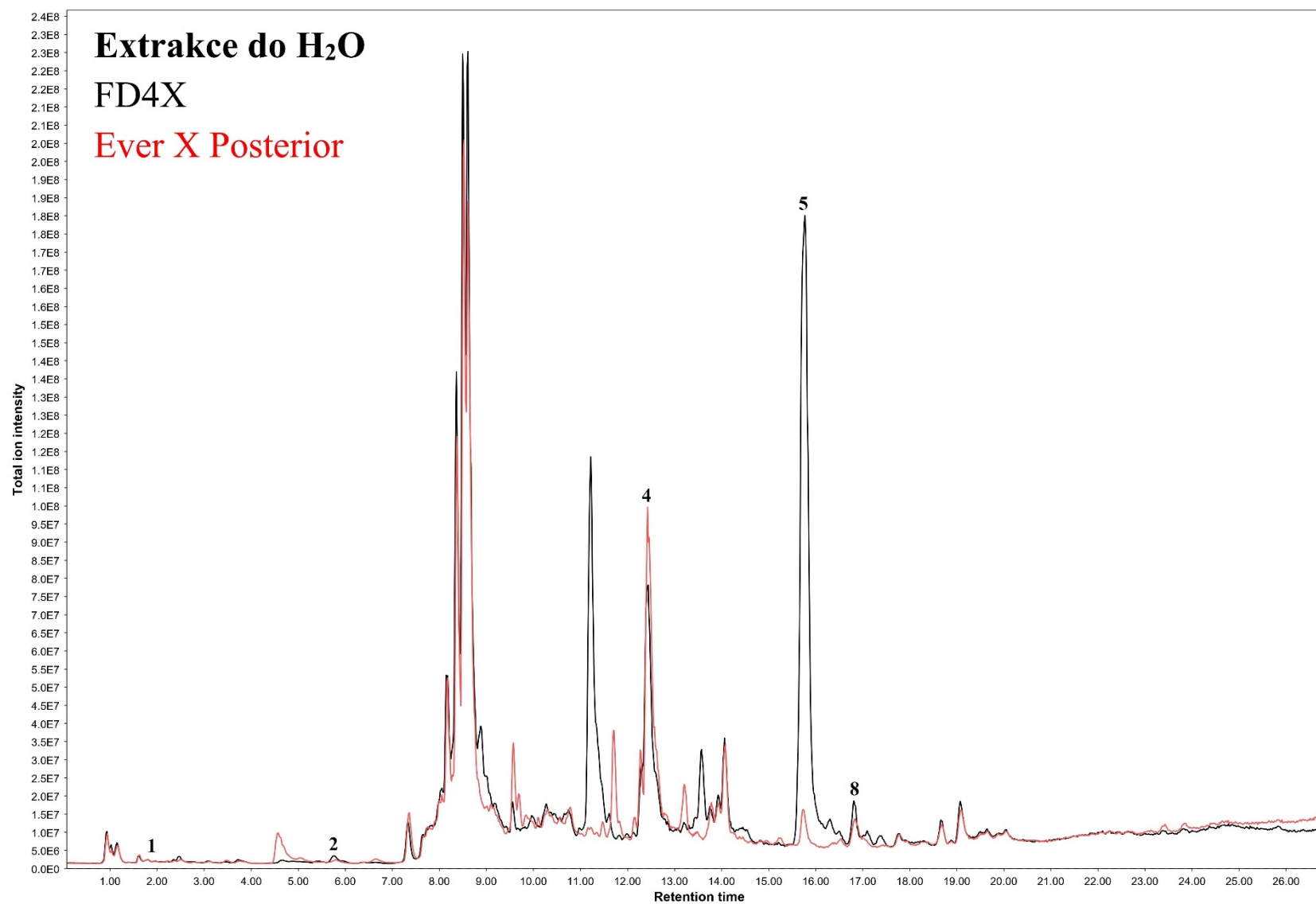
Jelikož se ze zubních kompozitů uvolňují kromě monomerů a jiných látek i oligomery (podle odborných článků [16, 99, 135, 144, 169]), tak v rámci diplomové práce byla snaha i o identifikaci různých oligomerů, ke kterým není dostupný komerční standard. I přesto, že studie zmiňují, že dochází k difuzi těchto látek ze ZK, tak se nepodařilo dohledat, že by tyto oligomery byly analyzovány prostřednictvím LC-MS v extraktech ze zubních kompozitů (a tedy konkrétně jmenovány nebo alespoň zmíněny jejich M_w nebo m/z).

I přesto, že byla zanalyzována celá řada extraktů (viz *obrázek 37 až obrázek 42* s označenými píky podle *tabulky 27*), tak se nepodařilo úspěšně identifikovat konkrétní oligomery. Neoznačené píky v chromatogramech mohou náležet dalším látkám obsažených v zubních kompozitech nebo degradačním produktům nebo potenciálně také oligomerům. Vědecká studie [113] detekovala až 180 různých píků v extrakčním médiu a vyzdvihuje nutnost, aby se v bezpečnostních listech uváděli veškeré použité látky, a to navzdory obchodnímu tajemství.

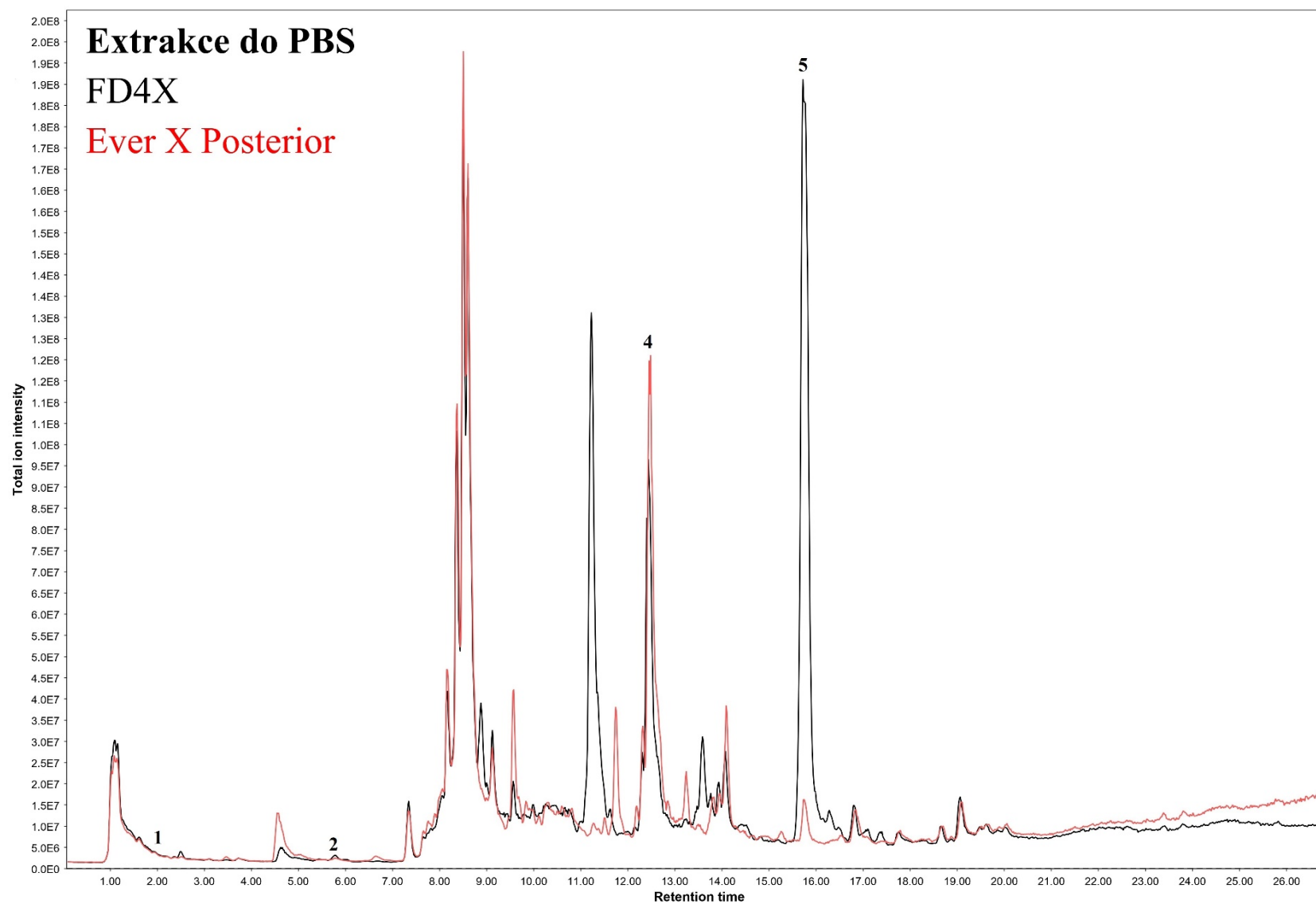
Ačkoli se nepodařilo jednoznačně identifikovat konkrétní oligomery, tak je vysoce pravděpodobné, že píky v retenčním čase 8,0 až 12,0 minut patří kopolymerům založeným na **hydrofilním** monomeru HEMA (viz *tabulka 28*, které jsou intenzivní zejména při extrakci **do H₂O a PBS** viz *obrázky 37, 38, 40 a 41*; typickým m/z je 113, což je fragment $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2^+$) a píky v retenčním čase 25,0 až 27,0 minut náležejí s největší pravděpodobností různým oligomerům založeným na **spíše hydrofóbních** monomerech BisGMA, BisEMA nebo UDMA (viz *tabulka 28*, které jsou intenzivní zejména při extrakci **do EtOH** nikoli při extrakci do H₂O či PBS viz *obrázek 39 a obrázek 42*).

Tabulka 28: Naměřené m/z potenciální oligomerů s jejich retenčními časy

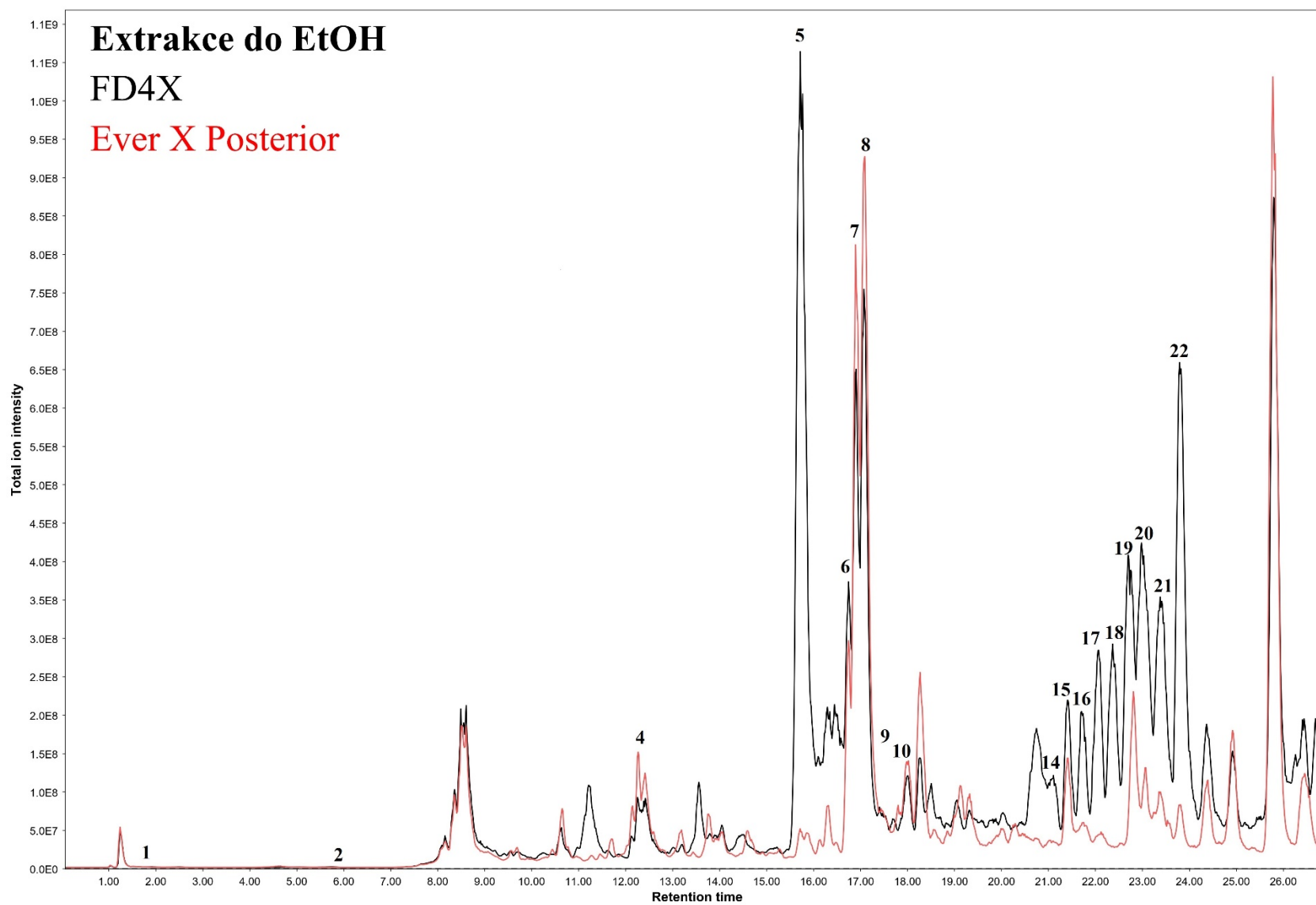
Mód ionizace	RT [min]	Předpokládaná M_w	m/z ve scanu
-	9,06	452	451,3; 487,3; 497,3
-	9,71	565	564,5; 600,5; 610,5
-	10,29	678	677,6; 713,7; 723,7
-	10,79	791	790,8; 826,9; 836,9
-	11,28	904	903,9; 940,1; 950,1
+	9,06	452	453,2; 475,2
+	9,71	565	566,4; 588,4
+	10,29	678	679,5; 701,5
+	10,79	791	792,6; 814,5
+	11,28	904	905,7; 927,7
+	11,78	1017	509,9; 520,9; 528,9
+	25,8	–	282,2 ; 563,5; 719,3
+	26,2	–	113,1; 282,2 ; 523,3; 626,4; 675,3
+	26,4	–	282,2 ; 523,2; 631,3
+	26,7	–	282,2 ; 345,1; 479,1; 582,3



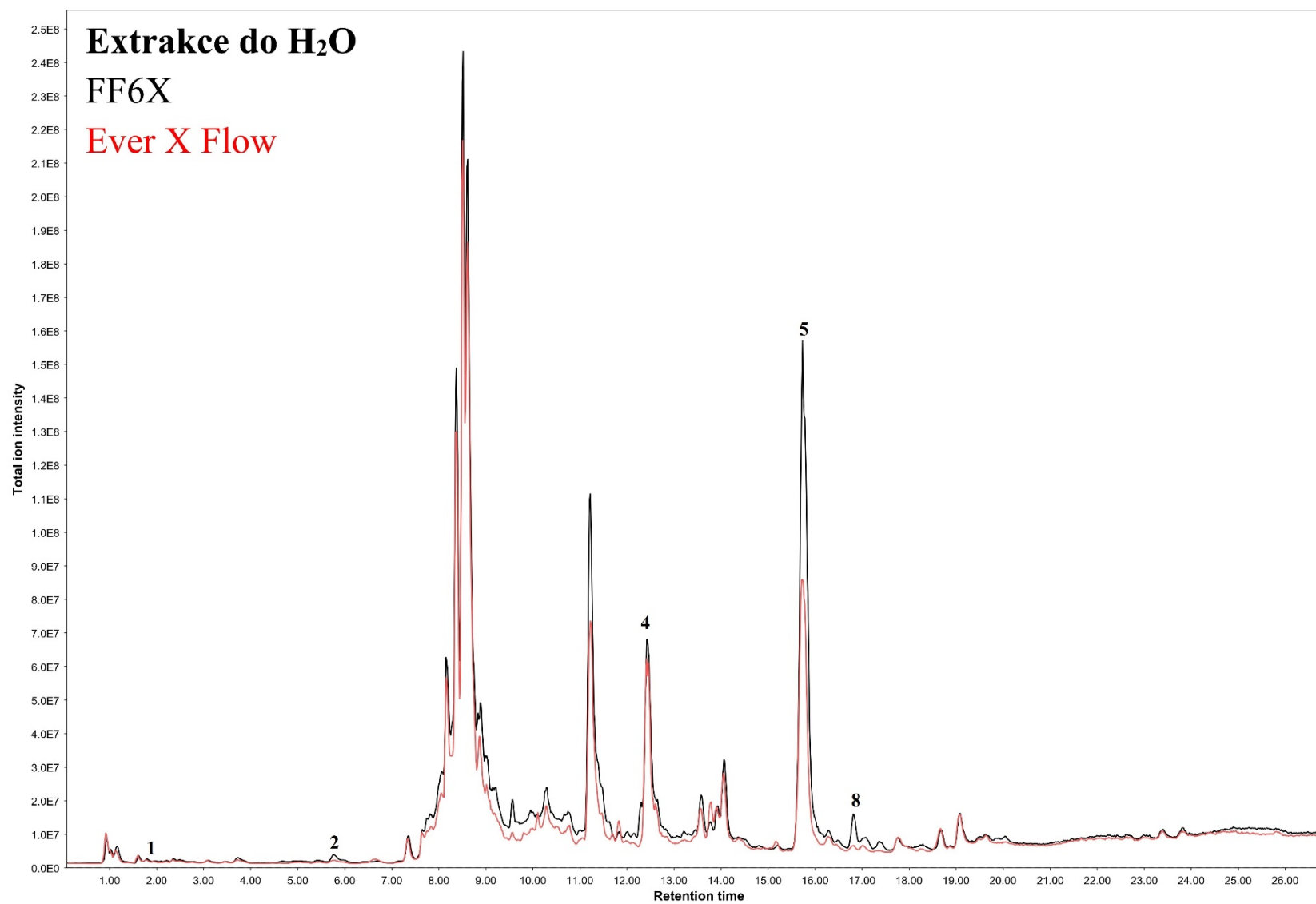
Obrázek 37: TIC chromatogram analýzy extrakčního média po extrakci FD4X a Ever X Posterior do H₂O po 3 dnech



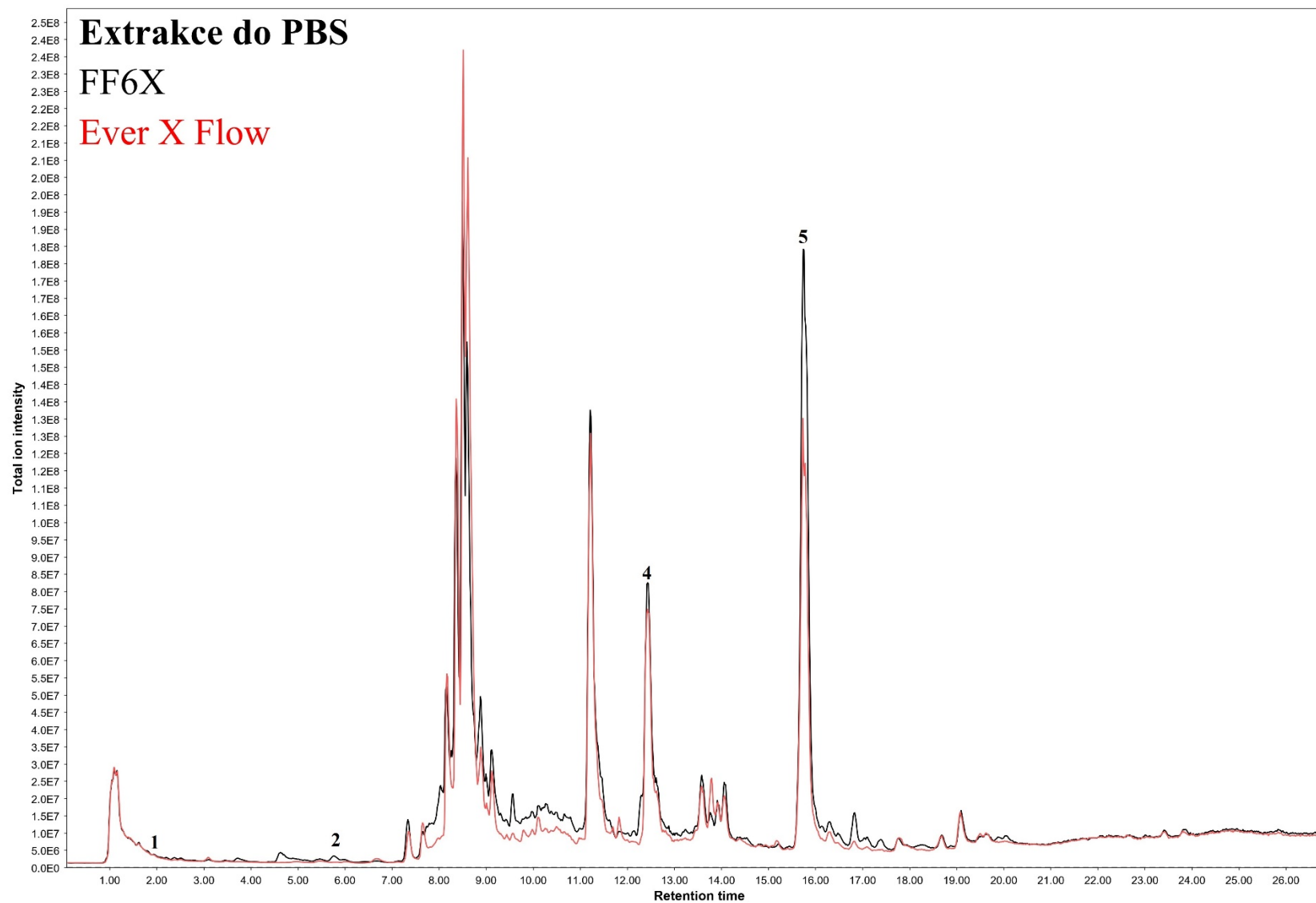
Obrázek 38: TIC chromatogram analýzy extrakčního média po extrakci FD4X a Ever X Posterior do PBS po 3 dnech



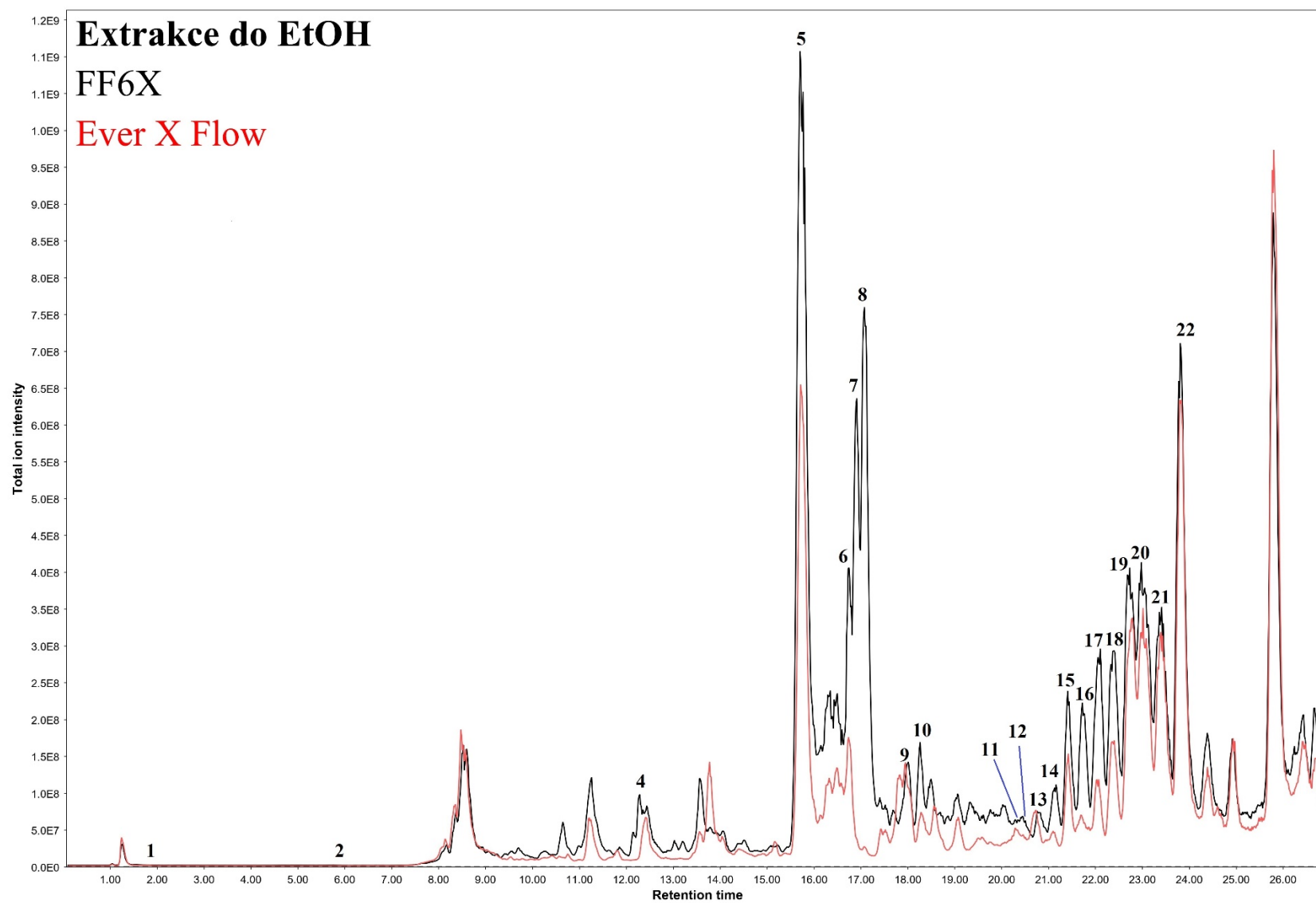
Obrázek 39: TIC chromatogram analýzy extrakčního média po extrakci FD4X a Ever X Posterior do 100% ethanolu po 3 dnech



Obrázek 40: TIC chromatogram analýzy extrakčního média po extrakci FF6X a Ever X Flow do H₂O po 3 dnech



Obrázek 41: TIC chromatogram analýzy extrakčního média po extrakci FF6X a Ever X Flow do PBS po 3 dnech



Obrázek 42: TIC chromatogram analýzy extrakčního média po extrakci FF6X a Ever X Flow do 100% ethanolu po 3 dnech

4.4 Kvantitativní analýza uvolněných látek ze zubních kompozitů

4.4.1 Kalibrační závislost

Vzhledem k nevyřešené stabilitě některých analyzovaných látek (viz [101] zejména DMAEMA) byly před každou analýzou připravovány nové směsné kalibrační roztoky. Před každým měřením extrakčních médií byla proměřena kalibrační řada pro kvantifikované látky, podle které se naměřená data vyhodnocovala. I přesto, že u monomeru BisGMA se vyskytovaly ve standardu oba izomery, tak kvantifikace byla provedena pouze na jednom z nich (konkrétně na BisGMA-A), jelikož druhý má velmi nízkou intenzitu i při vyšších koncentracích. Monomer BisEMA byl kvantifikován jako suma homologů BisEMA-2 až BisEMA-5, jelikož vyšší homology mají nízkou intenzitu i ve standardu. Kalibrační závislosti ze dne 16. 4. 2021 jsou zobrazeny v *tabulce 29* a to včetně typu využívaných funkcí pro kalibrační závislosti, váhové funkce a koeficientu determinace.

Tabulka 29: Kalibrační závislosti ze dne 16. 4. 2021 včetně typu funkce kalibrační závislosti, váhové funkce a koeficientu determinace

Analyt	Funkce kalibrační závislosti	Váhová funkce	Kalibrační závislost	R ² [-]
DMAEMA	lineární	1/x	$6285371x+153046$	0,99942
HEMA	kvadratická	1/x	$-145950x^2+688254x-12153$	0,99774
CQ	lineární	1/x	$162007x+18858$	0,99773
TEGDMA	kvadratická	1	$-9601720x^2+51782386x+5319761$	0,99919
UDMA	lineární	1	$18932892x+1905440$	0,99779
BisGMA	kvadratická	1/x	$500172x^2+668584x-11439$	0,99921
BisEMA	kvadratická	1	$-422896x^2+4872230x-162962$	0,9967

Jak je možné vidět v *tabulce 29*, tak byly využívány pro některé analyty lineární závislosti a pro některé kvadratické závislosti. Dále za účelem zvýšení koeficientu determinace R² a přesnosti kalibračních bodů pro každý analyt byla používána u některých kalibračních závislostí **váhová funkce**.

V případech, kdy je rozsah kalibračních bodů, respektive koncentrací kalibrační závislosti větší, tak chybovost jednotlivých bodů **může být značně odlišná**. Větší odchylky jsou přítomny zejména u vyšších koncentrací a tím významněji ovlivňují kalibrační závislost než menší odchylky u nižších kalibračních bodů (respektive způsobují tendenci kalibrační závislosti procházet těmito body o vyšší koncentraci). Jednoduchým a efektivním způsobem, jak odstranit tuto nepřesnost je použití váhové funkce během regrese nejmenších čtverců. Váhová funkce umožňuje tedy upřednostnit během aproximace některé kalibrační body nad ostatními, kde funkce 1/x klade vyšší důraz na nižší kalibrační body.

Dále byly stanoveny meze kvantifikace (LLOQ) a meze detekce (LOD). Pro jednotlivé kalibrační závislosti byly stanoveny LLOQ a LOD (viz *tabulka 30*). Limit kvantifikace je definován jako nejnižší koncentrace analytu, která může být ve vzorku zjištěna s úrovní přesnosti 10 % až 20 % podle měřených koncentrací (viz *rovnice 1*). Limit detekce je nejnižší koncentrace analytu, která může být detekována, ale nemusí být možné ji kvantifikovat za daných podmínek (viz *rovnice 2*).

$$LOQ = C, \quad (1)$$

kde C je rovno nejnižší koncentraci kalibrační závislosti pro daný analyt a zároveň splňuje podmínky $S/N \geq 10$.

$$LOD = \frac{LOQ}{3,3}, \quad (2)$$

kde $LLOQ$ je podle *rovnice 5* rovno nejnižší koncentraci kalibrační závislosti pro daný analyt.

Tabulka 30: Limity detekce a limity kvantifikace pro jednotlivé látky na UPLC-ESI-TQ

	LOD [$\mu\text{g/ml}$]	LLOQ [$\mu\text{g/ml}$]	ULOQ [$\mu\text{g/ml}$]
DMAEMA	0,0015	0,005	2,000
HEMA	0,0075	0,025	2,000
CQ	0,0758	0,250	2,000
TEGDMA	0,0030	0,010	2,000
UDMA	0,0152	0,050	2,000
BisGMA	0,0152	0,050	2,000
BisEMA	0,0152	0,050	2,000

4.4.2 Množství uvolněných látek do extrakčních medií

Naměřená data byla zpracována prostřednictvím softwaru TASQ a byly získány koncentrace v $\mu\text{g/ml}$ jednotlivých analytů. Tyto hodnoty následně byly přepočítány na $\mu\text{g/g}$ (viz rovnice 3). Přepočítané koncentrace uvolněných látek jsou tedy uvedeny v mikrogramech na hmotnost zubního kompozitu v gramech.

$$C \left[\frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right] = C \left[\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \right] \cdot \frac{V [\text{ml}]}{m [\text{g}]}, \quad (3)$$

kde $C [\mu\text{g/ml}]$ je koncentrace analytů v extrakčním médiu, $V [\text{ml}]$ je objem extrakčního média po inkubaci a $m [\text{g}]$ je hmotnost dvou peciček zubního kompozitu před začátkem dané extrakce.

Průměrné hodnoty výsledků jednotlivých experimentů včetně jejich směrodatných odchylek jsou uvedeny v příloze č. 1. Jelikož byla provedena kumulativní extrakce a bylo vždy po určité době zcela vyměněno extrakční médium, tak jsou v tabulce uvedeny hodnoty za 3 dny, za 10 dnů (součet uvolněného množství po 3 dnech a následujících dalších 7 dnech) a za 30 dnů (součet uvolněného množství po 3 dnech, následujících 7 a 20 dnech). V případech, kdy bylo množství uvolněného analytu pod limitem detekce, tak je uvedeno LOD. V jedné tabulce jsou vždy uvedeny dva různé zubní kompozity, které jsou spolu navzájem srovnávány (jelikož mají podobné vlastnosti/složení a především stejnou indikaci), tedy jeden od firmy ADM, a.s. (zatím komerčně nedostupný) a druhý od firmy GC EUROPE N.V. (komerčně dostupný). Stěžejní částí experimentální práce bylo provedení kumulativních extrakcí do H_2O , PBS a 100% EtOH. Následně byly dodatečně provedeny ještě extrakce do solného roztoku umělých slin a do citráto-fosfátového pufru o různém pH, avšak pouze se zubními kompozity od firmy ADM, a.s. (vzhledem k cenové dostupnosti zubních kompozitů od firmy GC EUROPE N.V.). Nicméně z těchto naměřených hodnot byly pro jednodušší srozumitelnost vytvořeny grafy (viz *obrázek 43 až obrázek 48*), na kterých je v případě, že analyt byl pod limitem detekce u dané látky obdobně jako v tabulce uvedeno LOD.

Na *obrázku 43* (respektive v *tabulce 31*) je graficky znázorněno množství uvolněných látek ze zubního materiálu FD4X a Ever X Posterior za teploty 37 °C do H₂O, PBS a 100% EtOH v rámci až 30 dnů. Nejvyšší množství uvolněných látek bylo uvolněno v rámci prvních 3 dnů do všech extrakčních médií, avšak nejvíce do 100% EtOH a méně do H₂O a PBS.

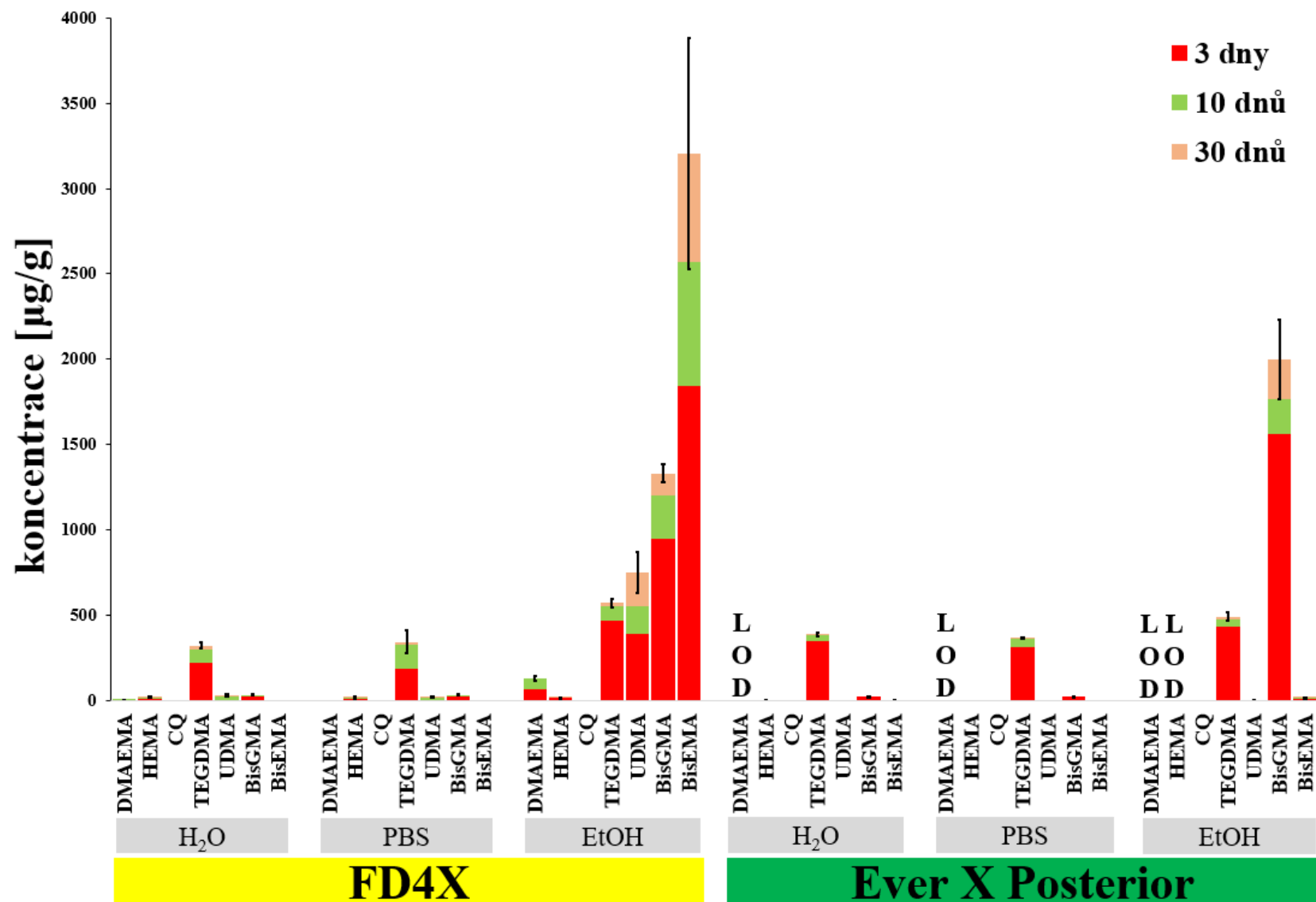
V případě **extrakce látek z FD4X do H₂O** se již některé látky neuvolňovaly po 3 dnech ve velkém množství, a to v případě DMAEMA, CQ, BisGMA a BisEMA. V případě fotoiniciátoru CQ a monomeru BisEMA byla extrakce ukončena již po prvních 3 dnech, jelikož v dalších analyzovaných extrakčních médiích nebylo detekováno. Eluce koiniciátoru DMAEMA a monomeru BisGMA byla ukončena až po 10 dnech. Avšak HEMA, TEGDMA a UDMA se uvolňovaly i z kompozitního materiálu i nadále, jelikož byly detekovány ve značném množství v extrakčních médiích po 30 dnech. V případě **extrakce látek z Ever X Posterior do H₂O** nebylo DMAEMA detekováno vůbec a eluce HEMA, CQ, BisGMA a BisEMA byla ukončena již po 3 dnech extrakce. Monomer UDMA se uvolňoval až v rámci 10 dnů a pouze monomer TEGDMA se uvolňoval i nadále.

V případě **extrakce látek z FD4X do PBS** je trend uvolňování látek totožný s uvolňováním do H₂O, avšak liší se ve svém množství. Uvolněná množství do H₂O byla vyšší až s výjimkou monomeru TEGDMA. V případě **extrakce látek z Ever X Posterior do PBS** je trend difuze látek z polymerní sítě také totožný, ale také se liší ve svém množství. Totožně uvolněná množství do H₂O byla vyšší až s výjimkou fotoiniciátoru CQ (diskutabilní vzhledem ke směrodatné odchylce) a velmi nepatrným rozdílem monomeru BisGMA.

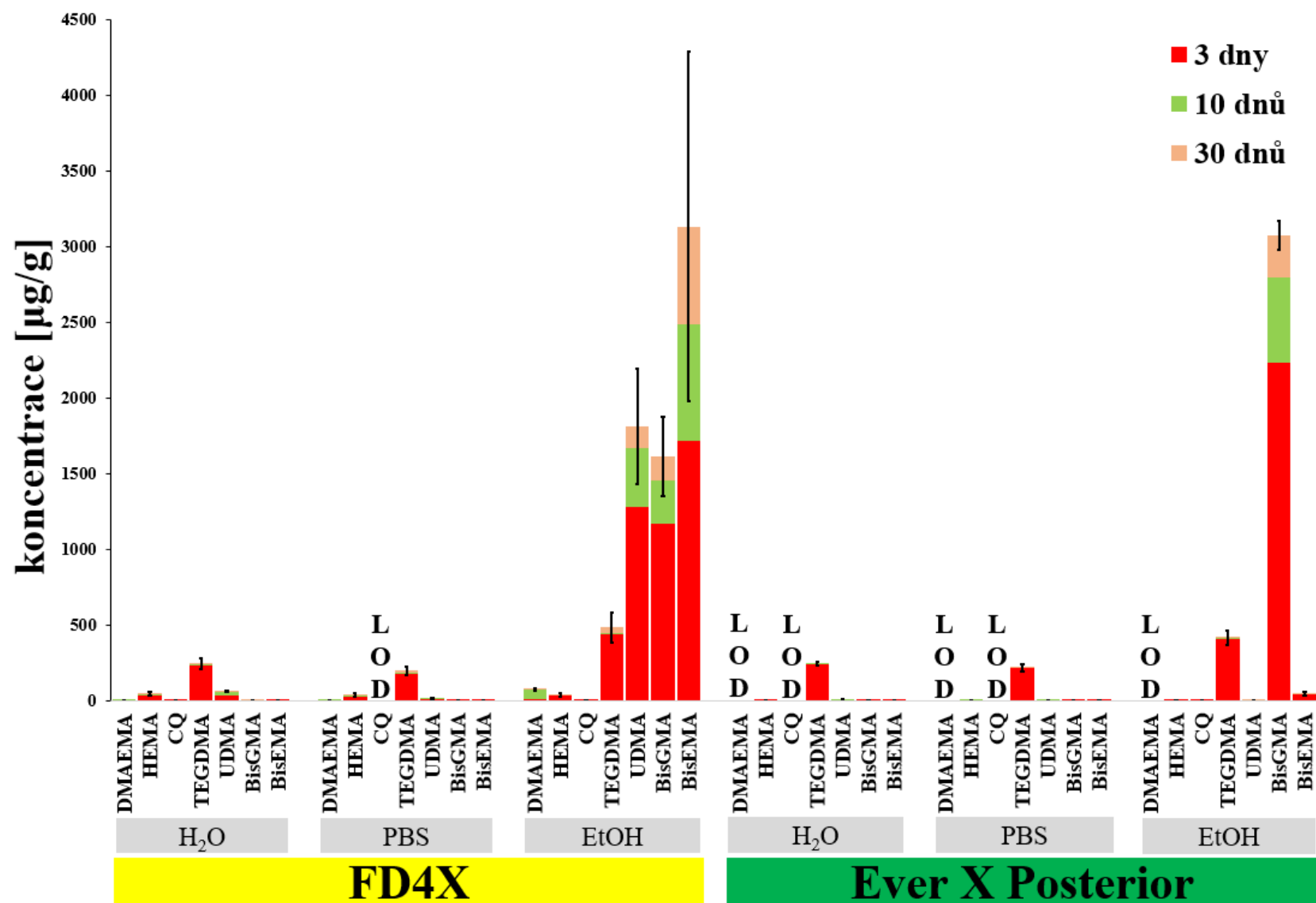
V případě **extrakce látek z FD4X do EtOH** bylo uvolněné množství látek několikanásobně vyšší než v případě extrakce do H₂O či PBS (s výjimkou monomeru HEMA a CQ, kde to je rovnocenné), a to zejména pro monomery UDMA, BisGMA a BisEMA. Pouze eluce fotoiniciátoru CQ byla ukončena po 3 dnech a eluce koiniciátoru DMAEMA byla ukončena po 10 dnech. Ostatní kvantifikované látky byly uvolňovány ve značném množství i nadále (avšak poměrově nejvyšší eluce v rámci prvních 3 dnů). V případě **extrakce látek z Ever X Posterior do EtOH** nebyl koiniciátor DMAEMA ani monomer HEMA detekován vůbec. Eluce fotoiniciátoru CQ byla ukončena již po 3 dnech, difuze monomeru UDMA po 10 dnech a ostatní látky byly uvolňovány i nadále ačkoli ve značně nižších množstvích.

Při porovnání *obrázku 43* s *obrázkem 44* (respektive *tabulky 31* a *tabulky 32*), kde se podmínky extrakce liší pouze svou teplotou, tedy 37 °C a 50 °C. **Z materiálu FD4X** bylo vyšší množství DMAEMA, TEGDMA, BisGMA (výjimka EtOH) uvolněno při 37 °C, naopak HEMA a UDMA (s výjimkou PBS) bylo uvolněno ve větším množství při 50 °C a teplota neměla vliv na uvolněné množství v případě CQ a BisEMA. **Z materiálu Ever X Posterior** bylo vyšší množství TEGDMA uvolněno při 37 °C a větší množství BisGMA (v případě EtOH) bylo uvolněno při 50 °C a u ostatních látek neměla teplota značný vliv. Nelze tedy jednoznačně pozorovat stejný vliv teploty na obecnou eluci látek ze zubního kompozitu.

Co se týče kvalitativní analýzy (viz *obrázek 37* až *obrázek 39*), tak se spektrum uvolněných látek jeví u obou ZK totožné. I přesto, že **FD4X** významně uvolňuje více monomeru UDMA a BisEMA než Ever X Posterior (avšak ten uvolňuje značně více monomeru BisGMA), tak se jeví z hlediska uvolněných látek shodně biokompatibilní. Jelikož monomer BisEMA je biokompatibilnější než monomer BisGMA (i přes to, že jsou oba odvozené od BPA) a monomer UDMA je jeden z nejvíce biokompatibilních monomerů (není odvozen od BPA a ani nemá aromatický kruh).



Obrázek 43: Naměřené koncentrace kumulativní extrakce látek z materiálu FD4X a Ever X Posterior za teploty 37 °C do H₂O, PBS a EtOH



Obrázek 44: Naměřené koncentrace kumulativní extrakce látek z materiálu FD4X a Ever X Posterior za teploty 50 °C do H₂O, PBS a EtO

Na *obrázku 45* (respektive v *tabulce 33*) je graficky znázorněno množství uvolněných látek ze zubního materiálu FF6X a Ever X Flow za teploty 37 °C do H₂O, PBS a 100% EtOH v rámci až 30 dnů. Nejvyšší množství uvolněných látek bylo uvolněno v rámci prvních 3 dnů do všech extrakčních médií, avšak nejvíce do 100% EtOH a méně do H₂O a PBS.

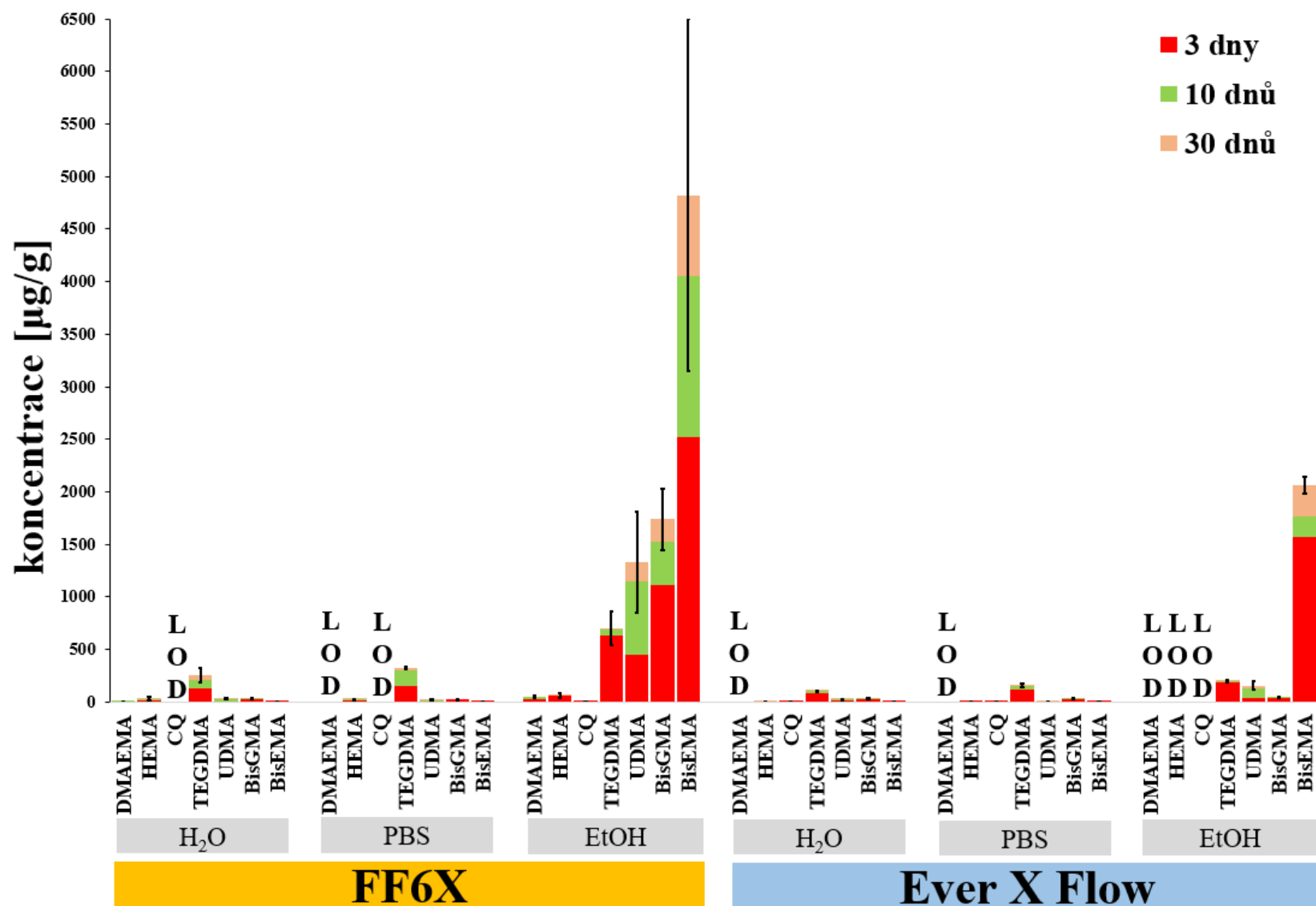
V případě **extrakce látek z FF6X do H₂O** se již některé látky neuvolňovaly po 3 dnech ve velkém množství, a to v případě DMAEMA, BisGMA a BisEMA. Fotoiniciátor CQ nebyl detekován vůbec a uvolňování monomeru BisEMA bylo ukončeno již po 3 dnech. Eluce koiniciátoru DMAEMA a monomeru BisGMA byla ukončena po 10 dnech. Ostatní látky (HEMA, TEGDMA a UDMA) byly uvolňovány i nadále avšak v mnohem menším množství (oproti původní eluci). V případě **extrakce látek z Ever X Posterior do H₂O** nebylo DMAEMA detekováno vůbec a eluce monomeru BisEMA byla ukončena již po 3 dnech extrakce. Fotoiniciátor CQ a monomer BisGMA se uvolňoval až v rámci 10 dnů. Monomery HEMA, TEGDMA a UDMA se uvolňovaly i nadále, ale v relativně nižším množství.

V případě **extrakce látek z FF6X do PBS** je trend uvolňování látek velmi podobný s uvolňováním do H₂O, avšak liší se ve svém množství. Uvolněná množství do H₂O byla vyšší s výjimkou monomeru TEGDMA. Koiniciátor DMAEMA a fotoiniciátor CQ nebyl detekován v extrakčních médiích vůbec. Eluce monomeru BisGMA a BisEMA skončila již po 3 dnech. V případě **extrakce látek z Ever X Posterior do PBS** je trend difuze látek z polymerní sítě totožný s difuzí látek do H₂O, ale liší se ve svém množství, kdy uvolněná množství do H₂O byla vyšší až s výjimkou monomeru TEGDMA.

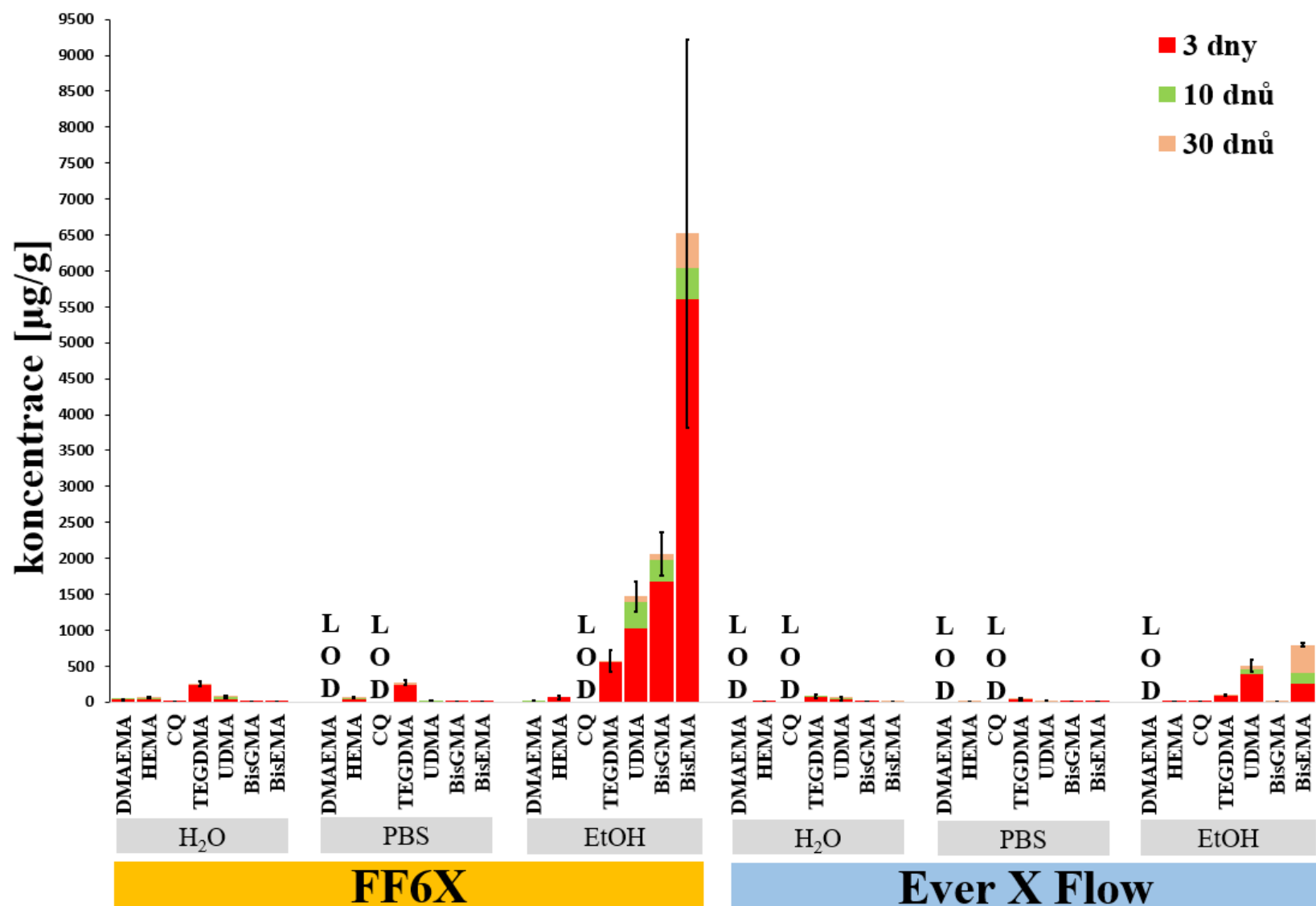
V případě **extrakce látek z FF6X do EtOH** bylo uvolněné množství látek několikanásobně vyšší než v případě extrakce do H₂O či PBS (s výjimkou monomeru HEMA, kde to je rovnocenné), a to zejména pro monomery UDMA, BisGMA a BisEMA. Pouze eluce fotoiniciátoru CQ byla ukončena po 3 dnech a eluce koiniciátoru DMAEMA byla ukončena po 10 dnech. Ostatní kvantifikované látky byly uvolňovány ve značném množství i nadále (avšak poměrově nejvyšší eluce v rámci prvních 3 dnů). V případě **extrakce látek z Ever X Flow do EtOH** nebyl koiniciátor DMAEMA, monomer HEMA ani fotoiniciátor CQ detekován vůbec. Monomery TEGDMA, UDMA, BisGMA a BisEMA byly uvolňovány po celou dobu extrakčních experimentů.

Při porovnání *obrázku 45* s *obrázkem 46* (respektive *tabulka 33* a *tabulka 34*), kde se podmínky extrakce liší pouze svou teplotou, tedy 37 °C a 50 °C. **Z materiálu FF6X** bylo vyšší množství DMAEMA, TEGDMA, BisGMA (výjimka EtOH) uvolněno při 37 °C, naopak HEMA bylo uvolněno ve větším množství při 50 °C a teplota neměla značný vliv na uvolněné množství v případě CQ, UDMA a BisEMA. **Z materiálu Ever X Flow** bylo vyšší množství TEGDMA, BisGMA a BisEMA (v případě EtOH) uvolněno při 37 °C. Větší množství monomeru UDMA (zejména v případě EtOH) bylo uvolněno při 50 °C a u ostatních látek neměla teplota značný vliv. Nelze tedy jednoznačně pozorovat stejný vliv teploty na obecnou eluci látek ze zubního kompozitu.

Co se týče kvalitativní analýzy (viz *obrázek 40* až *obrázek 42*), tak se spektrum uvolněných látek jeví u obou ZK totožné. I přesto, že **FF6X** uvolňuje zejména více monomerů TEGDMA, BisEMA a BisGMA než Ever X Flow, tak by měl i přesto být biokompatibilní, jelikož množství uvolňovaných látek je vysoké zejména v prvních 3 dnech a poté se rapidně snižuje. I LD₅₀ u těchto monomerů jsou podstatně/rádově vyšší než naměřené koncentrace uvolněných monomerů ze zubních kompozitů. Proto jsou oba zubní kompozity obdobně biokompatibilní i navzdory vyšší eluci.



Obrázek 45: Naměřené koncentrace kumulativní extrakce látek z materiálu FF6X a Ever X Flow za teploty 37 °C do H₂O, PBS a EtOH



Obrázek 46: Naměřené koncentrace kumulativní extrakce látek z materiálu FF6X a Ever X Flow za teploty 50 °C do H₂O, PBS a EtOH

Dále byly provedeny extrakční experimenty s materiálem **FD4X** a **FF6X** do roztoku umělých slin a do citráto-fosfátového pufru o různém pH za teploty 37 °C a 50 °C, v rámci až 10 dnů, viz *obrázek 47* a *obrázek 48* (respektive *tabulka 35* a *tabulka 36*).

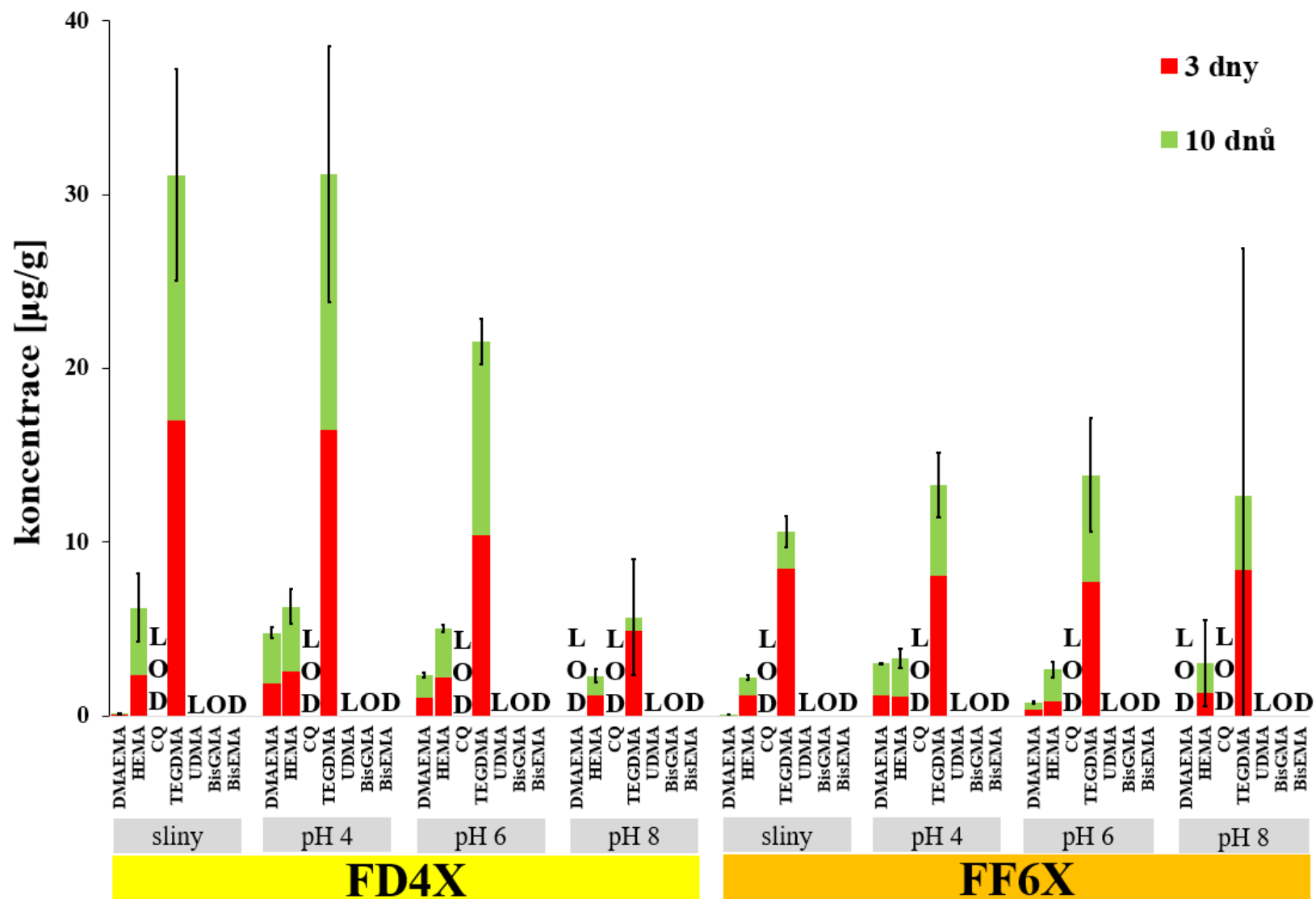
Do solného roztoku umělých nebylo z materiálu **FD4X** ani z materiálu **FF6X** uvolněno CQ, UDMA, BisGMA ani BisEMA, nebo jejich koncentrace byly alespoň pod limitem detekce i kvantifikace (viz *obrázek 47* a *obrázek 48*, respektive *tabulka 35* a *tabulka 36*). Nicméně bylo možné kvantifikovat množství DMAEMA, HEMA a TEGDMA, avšak jejich množství byla výrazně nižší než ta při extrakci do H₂O, PBS či 100% EtOH (s výjimkou DMAEMA, které bylo srovnatelné). Pro všechny tři látky byla uvolněná množství z těchto materiálů vyšší při 50 °C.

Vzhledem k tomu, že materiály mají jinou indikaci, tak i vlastnosti a složení, tak nejsou vzájemně srovnávány, avšak je zkoumán především vliv pH na eluci jednotlivých látek. V extrakčních médiích nebylo z materiálu **FD4X** ani z materiálu **FF6X** uvolněno CQ, UDMA, BisGMA ani BisEMA, nebo jejich koncentrace byly alespoň pod limitem detekce.

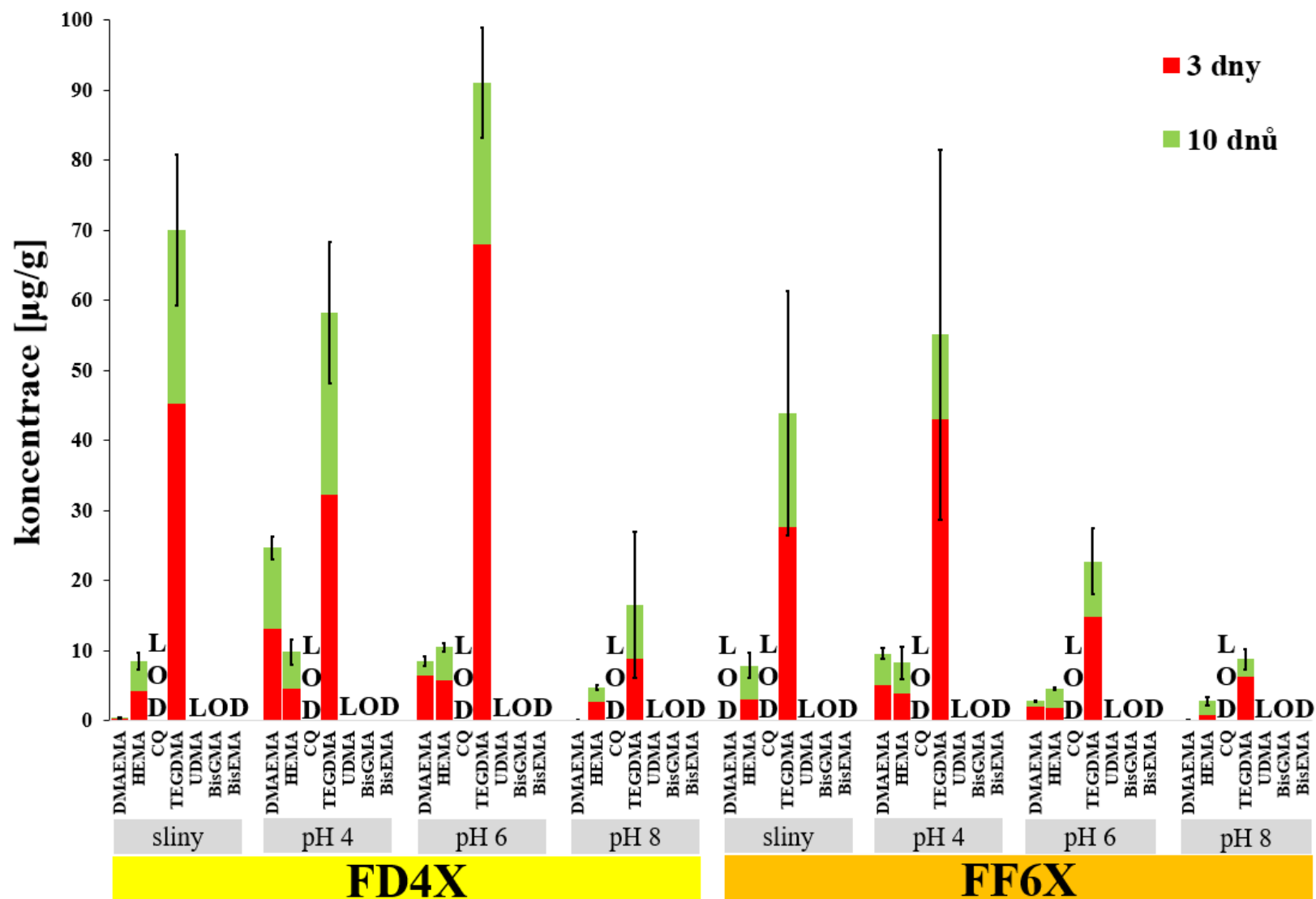
Při teplotě 37 °C bylo z materiálu **FD4X** uvolněno největší množství látek při pH 4 a nepatrně méně při pH 6 a množství eluované při pH 8 bylo značně nižší. Obdobný trend platí při teplotě 50 °C, avšak zde je při pH 6 uvolněno větší množství monomeru TEGDMA a srovnatelné množství monomeru HEMA. Negativní vliv na difuzi látek z kompozitního materiálu má tedy zásaditější hodnota pH.

Při teplotě 37 °C bylo z materiálu **FF6X** uvolněno srovnatelné množství monomeru HEMA a TEGDMA do všech extrakčních médií o různém pH, avšak množství koiniciátoru DMAEMA bylo nejvyšší při pH 4 a nejnižší při hodnotě pH 8, kde nebylo detekováno vůbec. Při teplotě 50 °C bylo uvolněno největší množství látek (DMAEMA, HEMA a TEGDMA) při pH 4 a nejnižší při pH 8. Negativní vliv na eluci látek ze zubního kompozitu má tedy zásaditější pH.

Vliv pH na složení a kvantitu uvolněných látek byl prozkoumán také ve studii [248], kde byly také provedeny experimenty s citráto-fosfátovým pufrem o různém pH, konkrétně o pH 4; 6 a 8. Souhlasně s experimentální částí této diplomové práce bylo zjištěno, že při pH 8 je množství uvolněných látek značně nižší. Vyšší množství monomerů je také uvolněno při nižším pH v rámci studie [249].



Obrázek 47: Naměřené koncentrace kumulativní extrakce látek z materiálu FD4X a FF6X za teploty 37 °C do solného roztoku umělých slin a do citráto-fosfátových pufrů o různém pH



Obrázek 48: Naměřené koncentrace kumulativní extrakce látek z materiálu FD4X a FF6X za teploty 50 °C do solného roztoku umělých slin a do citráto-fosfátových pufrů o různém pH

Velký vliv na množství vyloučených látek má zejména typ rozpouštědla (podobné se rozpouští v podobném), což dokazuje řada provedených laboratorních testů v rámci diplomové práce, ale i vědecké literatury např. [204, 213]. I přesto, že je trojrozměrná polymerní síť prakticky nerozpustná, tak je schopná botnat ve vhodném rozpouštědle. Na základě rozpustnostních parametrů rozpouštědla by bylo možné dokonce předpovědět, které z rozpouštědel bude nejefektivnější pro extrakci daných látek. Při porovnání extrakčních médií: voda, umělé sliny, alkoholy a rozpouštědel o různém pH bylo zjištěno, že rozpouštědla organické povahy jsou schopna lépe pronikat do polymerní sítě a nabotnat ji, což má za následek uvolnění většího množství nezreagovaných monomerů. Prostředí ústní dutiny patří spíše mezi agresivnější rozpouštědla, než je voda (obvykle je přirovnáváno k 75% roztoku ethanolu).

Vědecké studie dále uvádějí neshodně různou dobu uvolňování látek ze zubních kompozitů v rozmezí 1 až 30 dnů (např. viz [151, 159, 213]), kdy některé studie tvrdí, že veškeré potenciálně nezreagované monomery jsou uvolněny v rámci 1 až 7 dnů a některé studie tvrdí, že eluce probíhá i dlouho poté (např. i po 30 dnech). Nicméně podle [202] se studie shodují, že většina látek je extrahována v rámci několika prvních hodin až dnů. Na základě naměřených výsledků bych se spíše přiklonil k tomu, že uvolňování některých látek ze ZK může opravdu probíhat déle než 30 dnů, ale některých látek nikoli (např. DMAEMA a CQ). Taktéž výsledky diplomové práce potvrzují tvrzení, že většina látek je extrahována v rámci několika prvních hodin až dnů). Z výsledků vyplývá, že množství uvolněných látek, které byly kvantifikovány, může být navýšeno degradací polymerní matrice, nebo naopak sníženo degradací těchto látek v extrakčních médiích, a to zejména u delších extrakcí (respektive u 10denní či 30denní).

Provedené studie využívají různé objemy extrakčních médií a některé vyměňují či častěji nevyměňují extrakční médium v průběhu dlouhodobé eluce, což významně může ovlivnit získané výsledky, jelikož difuze probíhá do rovnováhy (např. viz [151, 202, 213]). Z tohoto důvodu byly v rámci diplomové práce provedeny kumulativní extrakce, kdy byl vyměněn celý objem extrakčního média.

Řada vědeckých studií [207] dokazuje, že látky difundují ze zubního kompozitu podle Fickových zákonů.

4.5 Hmotnostní úbytek peciček zubních kompozitů

V průběhu kumulativní extrakce byly uvolňovány látky tvořící polymerní síť (monomery, látky fotoiniciačního systému, oligomery a pravděpodobně také degradační produkty), avšak docházelo také k uvolňování keramické výplně/výztuže. Hmotnostní úbytky byly zaznamenávány během výměny extrakčních médií, respektive po 3, 10 až 30 dnech (viz *Obrázek 49* a *Obrázek 50*). Hmotnostní úbytek byl vypočítán podle rovnice 4.

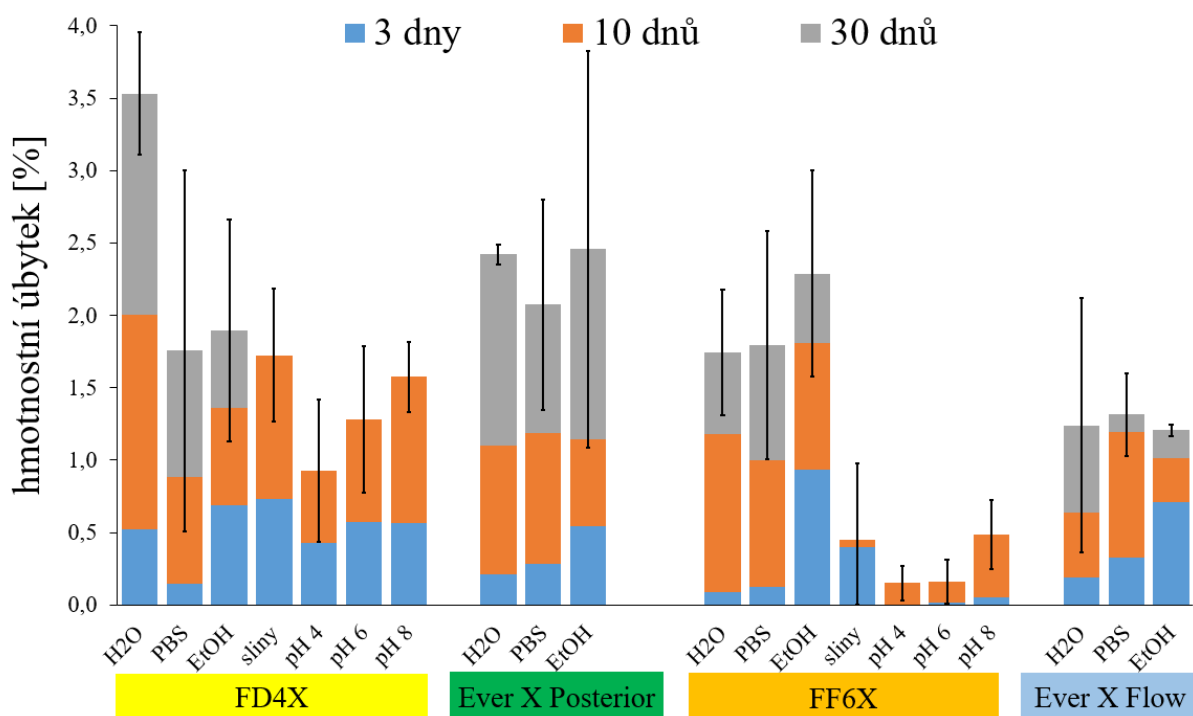
$$\text{hmotnostní úbytek [\%]} = \frac{\Delta m [\text{g}]}{m_1 [\text{g}]} \cdot 100, \quad (4)$$

kde $\Delta m [\text{g}]$ je hmotnostní úbytek po extrakci a $m_1 [\text{g}]$ je hmotnost peciček zubních kompozitů před danou extrakcí.

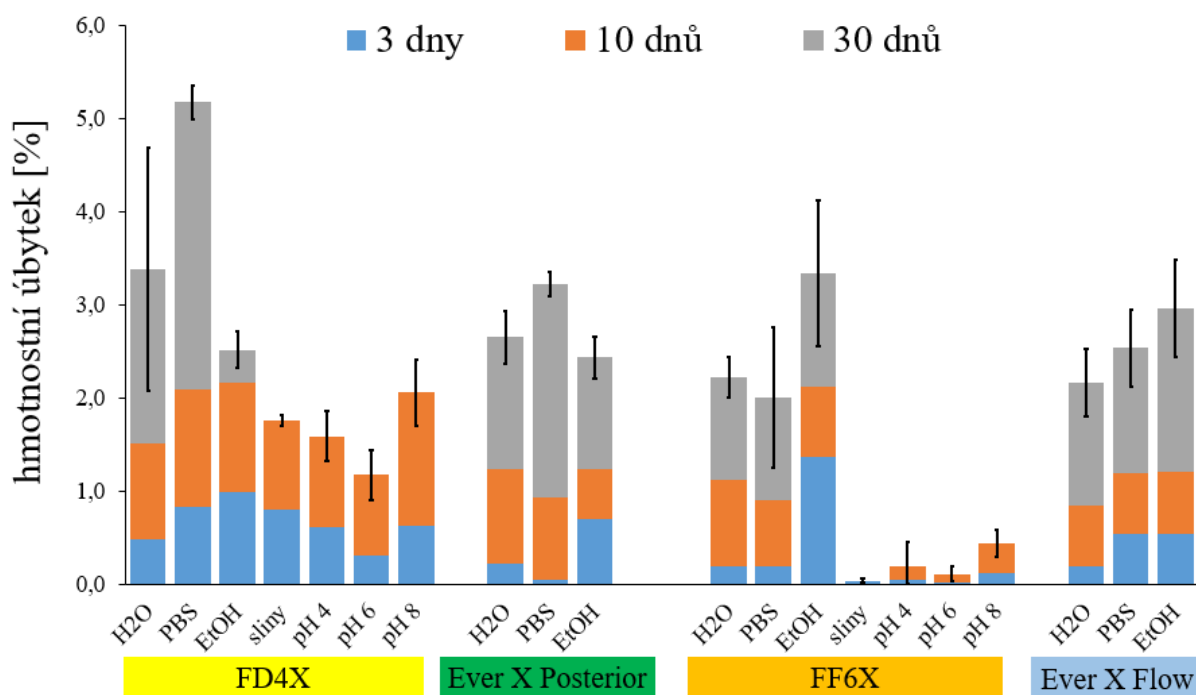
Na *obrázku 49* a *obrázku 50* je možné vidět hmotnostní úbytky materiálu **FD4X**, **Ever X Posterior**, **FF6X** a **Ever X Flow** za teploty 37 °C a 50 °C v různých extrakčních prostředích v rámci až 30 dnů (v případě solného roztoku umělých slin a citráto-fosfátových pufrů o různém pH pouze v rámci 10 dnů). Vzhledem ke značným odchylkám hmotnostního úbytku v jednotlivých extrakčních prostředích lze říct, že typ rozpouštědla ani teploty neměl prokazatelný vliv na hmotnostní úbytek. Jedinou anomálií je hmotnostní úbytek materiálu FD4X z PBS při teplotě 50°C a to až 5,2 % a u ostatních materiálů včetně různých experimentů jsou tyto rozdíly zanedbatelné vzhledem k vysokým odchylkám. Nejčastěji se hmotnostní úbytek pohybuje okolo 2 % až 3 % po 30 dnech s výjimkou materiálu FF6X, kde hmotnostní úbytek u solného roztoku umělých slin a citráto-fosfátových pufrů o různém pH je menší než 1 % (avšak pouze po 10 dnech).

Nicméně podle různých vědeckých studií [205, 206] může hmotnostní úbytek dosáhnout až 2 % z původní váhy zubního kompozitu. Nicméně v rámci experimentální práce této diplomové práce byly extrakční média po celou dobu protřepávána (v souladu s normou pro stanovení uvolněných látek ze zubních kompozitů), což může uvolňování látek značně urychlit.

Obecně má na vliv velikosti úbytku váhy zubního kompozitu složení zubního kompozitu, způsob polymerizace, doba extrakce, teplota a typ prostředí.



Obrázek 49: Hmotnostní úbytek peciček zubních kompozitů za teploty extrakce 37 °C



Obrázek 50: Hmotnostní úbytek peciček zubních kompozitů za teploty extrakce 50 °C

5 ZÁVĚR

V rámci diplomové práce byla zpracována aktuální problematika alternativních zubních kompozitních výplní, které by měly nahradit amalgámové výplně. Jelikož tyto výplně mají být v rámci Evropské unie do roku 2030 zcela zakázány. Avšak tyto zubní kompozitní materiály vzbuzují obavy, jelikož mohou potenciálně uvolňovat látky do prostředí ústní dutiny. Proto před jejich uvedením na komerční trh je nutné provést celou řadu testů v souladu s normami.

Právě provedení jednoho z těchto testů bylo cílem této diplomové práce. Za účelem posouzení vhodnosti byly provedeny kumulativní extrakční experimenty do různých extrakčních medií, za různých teplot, a to v délce až 30 dnů. Posouzení vhodnosti bylo provedeno porovnáním množství uvolněných látek z nových zatím komerčně nedostupných zubních kompozitů od firmy ADM, a.s. s již komerčně dostupnými zubními kompozity od firmy GC EUROPE N.V.

Jakožto vhodná analytická metoda pro kvalitativní i kvantitativní analýzu byla zvolena analytická metoda LC-ESI-MS, kterou bylo nutné nejdříve optimalizovat. Následně bylo prostřednictvím HPLC-ESI-IT provedena kvalitativní analýza těchto látek a prostřednictvím UPLC-ESI-TQ byla provedena kvantitativní analýza. Zároveň byl pozorován hmotnostní úbytek ze zubních kompozitů.

Na základě těchto naměřených dat byla posouzena vhodnost zubních kompozitů od firmy ADM, a.s. pro dentální aplikace. Z výsledků vyplývá, že posuzované zubní kompozity mají shodnou biokompatibilitu s těmi již komerčně dostupnými.

Avšak je nutné poznamenat, že vzhledem k dlouhodobé funkčnosti zubních výplní u lidí (5 až 10 let) by bylo vhodné provádět dlouhodobé studie na uvolňování těchto látek ze zubních kompozitů, nikoli pouze 30denní studii. Dále je nutné poznamenat, že i přesto, že uvolněné množství jednotlivých látek je značně nižší než jejich LD₅₀, tak tato data neodráží skutečnou toxicitu, a to především kvůli potenciálnímu synergickému účinku těchto látek či jejich degradačních produktů.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] PERES, Marco A, Lorna M D MACPHERSON, Robert J WEYANT, et al. Oral diseases: a global public health challenge. *The Lancet* [online]. 2019, 394(10194), 249-260 [cit. 2021-5-23]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(19)31146-8
- [2] Benzian, H. (2014). The neglect of global oral health: symptoms and solutions
- [3] HOLÍK, P. a Y. MOROZOVA. Opotřebení tvrdých zubních tkání a metody jeho hodnocení. *Česká stomatologie: Praktické zubní lékařství*. 2018, 118(4), 43-49.
- [4] REINHARDT, Belinda a Thomas BEIKLER. Dental Implants. *Advanced Ceramics for Dentistry*. Elsevier, 2014, 2014, , 51-75. DOI: 10.1016/B978-0-12-394619-5.00004-3. ISBN 9780123946195. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123946195000043>
- [5] BEZDĚKOVÁ, Milada, Kateřina KIKALOVÁ a Miroslav KOPECKÝ. *Anatomie 2 organologie*. Olomouc: Fakulta zdravotnických věd Univerzita Palackého v Olomouci, 2014.
- [6] BATES, Michael N. Mercury amalgam dental fillings: An epidemiologic assessment. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2006, 209(4), 309-316. DOI: 10.1016/j.ijheh.2005.11.006. ISSN 14384639. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1438463906000034>
- [7] HAQUE, Nasira, Safiyya YOUSAF, Touraj NEJATIAN, Mansour YOUSEFFI, Masoud MOZAFARI a Farshid SEFAT. Dental amalgam. *Advanced Dental Biomaterials*. Elsevier, 2019, 2019, , 105-125. DOI: 10.1016/B978-0-08-102476-8.00006-2. ISBN 9780081024768. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081024768000062>
- [8] Mercury in Health Care. In: World Health Organization [online]. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2005 [cit. 2020-05-09]. Dostupné z: https://www.who.int/water_sanitation_health/medicalwaste/mercurypolpaper.pdf
- [9] Národní plán týkající se opatření používání zubního amalgámu. In: Ministerstvo zdravotnictví České Republiky [online]. Praha: Ministerstvo zdravotnictví České Republiky, 2019 [cit. 2020-05-09]. Dostupné z: http://www.mzcr.cz/Odbornik/dokumenty/narodni-plan-tykajici-se-opatreni-pouzivani-zubniho-amalgamu_17577_1046_3.html
- [10] BAKHURJI, Eman, Thayer SCOTT, Thomas MANGIONE a Woosung SOHN. Dentists' perspective about dental amalgam: current use and future direction. *Journal of Public Health Dentistry*. 2017, 77(3), 207-215. DOI: 10.1111/jphd.12198. ISSN 00224006. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/jphd.12198>
- [11] NÁVRH LEGISLATIVNÍHO USNESENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU k návrhu rozhodnutí Rady o uzavření Minamatské úmluvy o rtuti jménem Evropské unie. In: . EU: Program OSN pro životní prostředí (UNEP), 2017. Dostupné také z: https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/A-8-2017-0067_CS.html
- [12] Mercury In Europe's environment: A priority for European and global action. Luxembourg: Publications Office of the European Union: European Environment Agency, 2018. ISBN 978-92-9213-984-1.

- [13] ALEXANDER, G, MS HOPCRAFT, MJ TYAS a RHK WONG. Dentists' restorative decision-making and implications for an 'amalgamless' profession. Part 1: a review. *Australian Dental Journal*. 2014, 59(4), 408-419. DOI: 10.1111/adj.12209. ISSN 00450421. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/adj.12209>
- [14] FISHER, Julian, Benoit VARENNE, Desiree NARVAEZ a Carolyn VICKERS. The Minamata Convention and the phase down of dental amalgam. *Bulletin of the World Health Organization*. 2018, 96(6), 436-438. DOI: 10.2471/BLT.17.203141. ISSN 0042-9686. Dostupné také z: <http://www.who.int/entity/bulletin/volumes/96/6/17-203141.pdf>
- [15] Future Use of Materials for Dental Restoration: Report of the meeting convened at WHO HQ. 1. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2009. ISBN 978-92-4-150064-7.
- [16] GEURTSSEN, W. Biocompatibility of Resin-Modified Filling Materials. 2016, 11(3), 333-355. DOI: 10.1177/10454411000110030401. ISSN 1045-4411. Dostupné také z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/10454411000110030401>
- [17] Biological evaluation of medical devices: Part 13: Identification and quantification of degradation products from polymeric medical devices (ISO 10993-13:2010). 2nd. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, 2010.
- [18] Geurtsen, W & Leyhausen, Gi. (2002). Chemical-Biological Interactions of the resin monomer triethyleneglycol-dimethacrylate (TEGDMA). *Journal of dental research*. 80. 2046-50.
- [19] MICHELSEN, Vibeke Barman, Henning LYGRE, Rita SKÅLEVIK, Anne Bjørg TVEIT a Einar SOLHEIM. Identification of organic eluates from four polymer-based dental filling materials. *European Journal of Oral Sciences* [online]. 2003, 111(3), 263-271 [cit. 2021-5-23]. ISSN 09098836. Dostupné z: doi:10.1034/j.1600-0722.2003.00033.x
- [20] DURNER, J., P. WELLNER, R. HICKEL a F.X. REICHL. Synergistic interaction caused to human gingival fibroblasts from dental monomers. *Dental Materials* [online]. 2012, 28(8), 818-823 [cit. 2021-5-23]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2012.04.031
- [21] KLEPÁČEK, Ivo. *Klinická anatomie ve stomatologii*. Praha: Grada, 2001. ISBN 80-716-9770-2.
- [22] MAZÁNEK, Jiří. *Zubní lékařství: propedeutika*. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-3534-4.
- [23] MAZÁNEK, Jiří. *Stomatologie pro dentální hygienistky a zubní instrumentárky: propedeutika*. Praha: Grada Publishing, 2015. ISBN 978-80-247-4865-8.
- [24] CHEN, Haifeng a Yihong LIU. Teeth. *Advanced Ceramics for Dentistry* [online]. Elsevier, 2014, 2014, , 5-21 [cit. 2021-5-23]. ISBN 9780123946195. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-394619-5.00002-X
- [25] New Zealand Dental Association (2010). *Healthy Mouth, Healthy Ageing: Oral Health Guide for Caregivers of Older People*. Auckland: New Zealand Dental Association.
- [26] KRŇOULOVÁ, Jana a Hana HUBÁLKOVÁ. *Fixní zubní náhrady*. Praha: Quintessenz, c2002. Quintessenz bibliothek. ISBN 80-902-1189-5.
- [27] Lussi A, Hellwig E, Zero DT, Jaeggi T: Erosive tooth wear: diagnosis, risk factors and prevention. *Am J Dent* 2006;19:319–325.

- [28] The Challenge of Oral Disease – A call for global action. The Oral Health Atlas. 2nd ed. Geneva: FDI World Dental Federation; 2015
- [29] Laminate Veneer [online]. Istanbul: Cagrialtuntas, 2021 [cit. 2021-5-23]. Dostupné z: <http://cagrialtuntas.com/en/wp-content/uploads/2019/10/asdasdaz.png>
- [30] ENDER, Andreas, Werner H. MÖRMANN a Albert MEHL. Efficiency of a mathematical model in generating CAD/CAM-partial crowns with natural tooth morphology. Clinical Oral Investigations [online]. 2011, 15(2), 283-289 [cit. 2021-5-23]. ISSN 1432-6981. Dostupné z: doi:10.1007/s00784-010-0384-z
- [31] Introduction to Implant Dentistry: A student guide: Section II Biologic Considerations. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery:. 2017, 75(2), 3-9.
- [32] DENG, Kehui, Yong WANG, Yongsheng ZHOU a Yuchun SUN. Functionally suitable digital removable complete dentures: A dental technique. The Journal of Prosthetic Dentistry [online]. 2020, 123(6), 795-799 [cit. 2021-5-23]. ISSN 00223913. Dostupné z: doi:10.1016/j.prosdent.2019.05.024
- [33] ZHAO, Jing a Xinzhi WANG. Dental Prostheses. Advanced Ceramics for Dentistry [online]. Elsevier, 2014, 2014, , 23-49 [cit. 2021-5-23]. ISBN 9780123946195. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-394619-5.00003-1
- [34] Filling Vs Inlay Vs Onlay Vs Crown: What's The Difference And Which Is The Right One For You? Rancho Santa Fe Cosmetic & Family Dentistry [online]. USA, 2021 [cit. 2021-5-23]. Dostupné z: <https://www.rsfdentist.com/our-blog/2016/12/1/filling-vs-inlay-vs-onlay-vs-crown-whats-the-difference>
- [35] GAY, DonD, RobertD COX a JohnW REINHARDT. CHEWING RELEASES MERCURY FROM FILLINGS. The Lancet. 1979, 313(8123), 985-986. DOI: 10.1016/S0140-6736(79)91773-2. ISSN 01406736. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673679917732>
- [36] Mercury in Dental Amalgams: An Examination of the Science : Hearing Before the Committee on Government Reform, House of Representatives. In: . United States: U.S. Government Printing Office, 2003, ročník 107, číslo 2.
- [37] MUTTER, J., J. NAUMANN, C. SADAGHIANI, H. WALACH a G. DRASCH. Amalgam studies: Disregarding basic principles of mercury toxicity. International Journal of Hygiene and Environmental Health. 2004, 207(4), 391-397. DOI: 10.1078/1438-4639-00305. ISSN 14384639. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1438463904703028>
- [38] GUZZI, Gianpaolo, Marco GRANDI, Cristina CATTANEO, Stefano CALZA, Claudio MINOIA, Anna RONCHI, Anna GATTI a Gianluca SEVERI. Dental Amalgam and Mercury Levels in Autopsy Tissues. The American Journal of Forensic Medicine and Pathology. 2006, 27(1), 42-45. DOI: 10.1097/01.paf.0000201177.62921.c8. ISSN 0195-7910. Dostupné také z: <http://journals.lww.com/00000433-200603000-00007>
- [39] PANT, VandanaA, Monika RATHORE a Archana SINGH. The dental amalgam toxicity fear: A myth or actuality. Toxicology International. 2012, 19(2). DOI: 10.4103/0971-6580.97191. ISSN 0971-6580. Dostupné také z: <http://www.toxicologyinternational.com/text.asp?2012/19/2/81/97191>

- [40] PATTERSON, J. E., B. G. WEISSBERG a P. J. DENNISON. Mercury in human breath from dental amalgams. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* [online]. 1985, 34(1), 459-468 [cit. 2021-5-23]. ISSN 0007-4861. Dostupné z: doi:10.1007/BF01609761
- [41] MEYER, Daniel M., Linda M. KASTE, Kathy M. LITURI, Scott TOMAR, Christopher H. FOX a Poul Erik PETERSEN. Policy Development Fosters Collaborative Practice. *Dental Clinics of North America*. 2016, 60(4), 921-942. DOI: 10.1016/j.cden.2016.05.009. ISSN 00118532. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S001185321630057X>
- [42] CAROCCI, Alessia, Nicola ROVITO, Maria Stefania SINICROPI a Giuseppe GENCHI. Mercury Toxicity and Neurodegenerative Effects. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2014, 2014-12-31, , 1-18 [cit. 2021-5-23]. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. ISBN 978-3-319-03776-9. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-03777-6_1
- [43] MULLIGAN, S., G. KAKONYI, K. MOHARAMZADEH, S. F. THORNTON a N. MARTIN. The environmental impact of dental amalgam and resin-based composite materials. *British Dental Journal*. 2018, 224(7), 542-548. DOI: 10.1038/sj.bdj.2018.229. ISSN 0007-0610. Dostupné také z: <http://www.nature.com/articles/sj.bdj.2018.229>
- [44] DRUMMOND, James L., Michael D. CAILAS a Kevin CROKE. Mercury generation potential from dental waste amalgam. *Journal of Dentistry*. 2003, 31(7), 493-501. DOI: 10.1016/S0300-5712(03)00083-6. ISSN 03005712. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0300571203000836>
- [45] SHRAIM, Amjad, Awadh ALSUHAIMI a Jalal Thamer AL-THAKAFY. Dental clinics: A point pollution source, not only of mercury but also of other amalgam constituents. *Chemosphere*. 2011, 84(8), 1133-1139. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.04.034. ISSN 00456535. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653511004255>
- [46] Technical Background Report for the Global Mercury Assessment 2013. 1. Geneva: United Nations Environment Programme (UNEP), 2013. ISBN 978-82-791-080-6.
- [47] LYNCH, C. D. a N. H. F. WILSON. Managing the phase-down of amalgam: part II. Implications for practising arrangements and lessons from Norway. *British Dental Journal*. 2013, 215(4), 159-162. DOI: 10.1038/sj.bdj.2013.788. ISSN 0007-0610. Dostupné také z: <http://www.nature.com/articles/sj.bdj.2013.788>
- [48] ZABROVSKY, A., N. BEYTH, Y. PIETROKOVSKI, G. BEN-GAL a Y. HOURI-HADDAD. Biocompatibility and functionality of dental restorative materials. *Biocompatibility of Dental Biomaterials*. Elsevier, 2017, 2017, , 63-75. DOI: 10.1016/B978-0-08-100884-3.00005-9. ISBN 9780081008843. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081008843000059>
- [49] FISHER, Julian, Benoit VARENNE, Desiree NARVAEZ a Carolyn VICKERS. The Minamata Convention and the phase down of dental amalgam. *Bulletin of the World Health Organization*. 2018, 96(6), 436-438. DOI: 10.2471/BLT.17.203141. ISSN 0042-9686. Dostupné také z: <http://www.who.int/entity/bulletin/volumes/96/6/17-203141.pdf>

- [50] SEEMANN, Rainer, Simon FLURY, Frank PFEFFERKORN, Adrian LUSSI a Michael J. NOACK. Restorative dentistry and restorative materials over the next 20 years: A Delphi survey. *Dental Materials*. 2014, 30(4), 442-448. DOI: 10.1016/j.dental.2014.01.013. ISSN 01095641. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0109564114000256>
- [51] VAN NOORT, Richard a Michele BARBOUR. *Introduction to Dental Materials - E-Book*. 4. USA: Elsevier Health Sciences, 2014. ISBN 780723437819.
- [52] BAKOŠ, Dušan. ANORGANICKÉ, KOMPOZITNÉ A POLYMÉRNE BIOMATERIÁLY PRE TKANIVOVÉ INŽINIERSTVO. *Chemické listy*. 2010, 104(5), 498-500.
- [53] DE SOUZA GOMES, Ailton, ed. *Polymerization*. 1. Rijeka, Croatia: BoD – Books on Demand, 2012. ISBN 978-953-51-0745-3.
- [54] PARK, Joon a Roderic S. LAKES. *Biomaterials: an introduction*. 3rd ed. New York: Springer, c2007. ISBN 978-0-387-37880-0.
- [55] DOSTÁLOVÁ, Tatjana, Michaela SEYDLOVÁ a Kolektiv. *Stomatologie*. Praha: Grada Publishing, 2008. ISBN 978-80-247-2700-4.
- [56] POWER, John a John WATAHA. *Dental Materials: Foundations and Applications*. 11th Edition. St. Louis, Missouri: Elsevier - Health Sciences Division, 2016. ISBN 978-0-323-31637-8.
- [57] SELWITZ, Robert H, Amid I ISMAIL a Nigel B PITTS. Dental caries. *The Lancet*. 2007, 369(9555), 51-59. DOI: 10.1016/S0140-6736(07)60031-2. ISSN 01406736. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673607600312>
- [58] Katepsinové proteasy v patologii. *Chemické Listy*. 2014, 108(4), 358-363. ISSN 1213-7103.
- [59] ZAGHO, Moustafa, Essraa HUSSEIN a Ahmed ELZATAHRY. Recent Overviews in Functional Polymer Composites for Biomedical Applications. *Polymers* [online]. 2018, 10(7) [cit. 2021-5-23]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: [doi:10.3390/polym10070739](https://doi.org/10.3390/polym10070739)
- [60] GREIG, V. Craig's restorative dental materials, 13th edition. *British Dental Journal* [online]. 2012, 213(2), 90-90 [cit. 2021-5-23]. ISSN 0007-0610. Dostupné z: [doi:10.1038/sj.bdj.2012.659](https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2012.659)
- [61] *British Dental Journal* [online]. 206. 2009 [cit. 2021-5-23]. ISSN 0007-0610. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/sj.bdj.2009.321>
- [62] Kratochvíl B., Švorčík V., Vojtěch D.: *Úvod do studia materiálů*. 1. vyd. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 2005. Str. 1. ISBN 80-7080-568-4
- [63] *Composite Fillers and Reinforcements Information*. *Engineering 360* [online]. USA: Engineering 360, 2021 [cit. 2021-5-23]. Dostupné z: https://www.globalspec.com/learnmore/materials_chemicals_adhesives/composites_textiles_reinforcements/fillers_reinforcements
- [64] *Composite reinforcements and fillers*. Santa Clara University Engineering Design Center [online]. USA: Santa Clara University Engineering Design Center, 2021 [cit. 2021-5-23]. Dostupné z: https://www.dc.engr.scu.edu/cmdoc/dg_doc/develop/material/overview/a3000002.html

- [65] McCabe, J. F., & Walls, A. W. G. (Eds.). (2008). *Applied Dental Materials* (9th ed.). Chichester, England: Wiley-Blackwell.
- [66] Kompozity s termoplastickou matricí a automobilový průmysl, 2. část. PlasticPortal [online]. EU, 2014 [cit. 2021-5-23]. Dostupné z: <https://www.plasticportal.cz/cs/kompozity-s-termoplastickou-matrici-a-automobilovy-prumysl-2-cast.html/c/2653/>
- [67] Manappallil, J. J. (2010). *Basic Dental Materials* (3rd ed.). New Delhi, India: Jaypee Brothers Medical.
- [68] FERRACANE, Jack L. a William M. PALIN. Effects of particulate filler systems on the properties and performance of dental polymer composites. *Non-Metallic Biomaterials for Tooth Repair and Replacement* [online]. Elsevier, 2013, 2013, , 294-335 [cit. 2021-5-23]. ISBN 9780857092441. Dostupné z: doi:10.1533/9780857096432.3.294
- [69] KOMPOZITNÍ MATERIÁLY. ČVUT, Fakulta strojní, ústavu materiálového inženýrství [online]. Praha [cit. 2021-5-23]. Dostupné z: http://umi.fs.cvut.cz/wp-content/uploads/2014/08/6_kompozitni-materialy.pdf
- [70] Ravve, A. (2012). *Principles of polymer chemistry* (3rd ed.). New York, NY: Springer.
- [71] Ducháček V.: *Polymery - výroba, vlastnosti, zpracování, použití*. 2. vyd. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 2006. ISBN 80-7080-617-6
- [72] Kumar, A., & Gupta, R. K. (2018). *Fundamentals of polymer engineering*, third edition (3rd ed.). New York, NY: Productivity Press.
- [73] Gedde, U. W. (2013). *Polymer physics* (1999th ed.). Dordrecht, Netherlands: Springer Netherlands.
- [74] Sideridou, IRINI. (2010). DENTAL POLYMER COMPOSITES. Irini D. Sideridou Chapter in : *Encyclopedia of Polymer Composites: Properties, Performance and Applications*. Editor: Mikhail Lechkov and Sergej Prandzheva. Nova Science Publishers, Inc. NY 11788 USA, p 593-619 (2010).
- [75] Polymeric Dental Materials. (2007). In Van Nostrand's Scientific Encyclopedia, G.D. Considine (Ed.). <https://doi.org/10.1002/0471743984.vse9006>
- [76] JOSE, Josmin P. a Kuruvilla JOSEPH. Advances in Polymer Composites: Macro- and Microcomposites - State of the Art, New Challenges, and Opportunities. *Polymer Composites* [online]. Weinheim, Germany, 2012, 2012-03-21, , 1-16 [cit. 2020-12-15]. ISBN 9783527645213. Dostupné z: doi:10.1002/9783527645213.ch1
- [77] Stavreva, N., & Kapusevska, B. (2019). BIOCOPATIBILITY AND REACTION OF DENTAL POLYMERS IN ORAL ENVIRONMENT. *Knowledge International Journal*, 31(4), 835 - 839. Retrieved from <https://ikm.mk/ojs/index.php/KIJ/article/view/1185>
- [78] WU, Jiangtao, Zeang ZHAO, Craig M. HAMEL, Xiaoming MU, Xiao KUANG, Zaoyang GUO a H. Jerry QI. Evolution of material properties during free radical photopolymerization. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids* [online]. 2018, 112, 25-49 [cit. 2020-12-15]. ISSN 00225096. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmps.2017.11.018
- [79] SANTINI, Ario, Iranzihuatl Torres GALLEGOS a Christopher M. FELIX. Photoinitiators in Dentistry: A Review. *Primary Dental Journal* [online]. 2013, 2(4), 30-33 [cit. 2020-12-15]. ISSN 2050-1684. Dostupné z: doi:10.1308/205016814809859563

- [80] Anusavice, K. J. (2012). Phillips' science of dental materials (12th ed.; K. J. Anusavice, C. Shen, & H. R. Rawls, Eds.). London, England: W B Saunders.
- [81] NASSAR, Hani, Tien-Min CHU a Jeffrey PLATT. Optimizing light-cured composite through variations in camphorquinone and butylhydroxytoluene concentrations. *Brazilian Oral Research* [online]. 2016, 30(1) [cit. 2020-12-15]. ISSN 1806-8324. Dostupné z: doi:10.1590/1807-3107BOR-2016.vol30.0066
- [82] KAMOUN, Elbadawy A., Andreas WINKEL, Michael EISENBURGER a Henning MENZEL. Carboxylated camphorquinone as visible-light photoinitiator for biomedical application: Synthesis, characterization, and application. *Arabian Journal of Chemistry* [online]. 2016, 9(5), 745-754 [cit. 2020-12-15]. ISSN 18785352. Dostupné z: doi:10.1016/j.arabjc.2014.03.008
- [83] Nie, J., Lindén, L., Rabek, J., Fouassier, J., Morlet-Savary, F., Scigalski, F., Wrzyszczyński, A. and Andrzejewska, E. (1998), A reappraisal of the photopolymerization kinetics of triethyleneglycol dimethacrylate initiated by camphorquinone-N,N-dimethyl-p-toluidine for dental purposes. *Acta Polym.*, 49: 145-161. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4044\(199804\)49:4<145::AID-APOL145>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4044(199804)49:4<145::AID-APOL145>3.0.CO;2-D)
- [84] JANG, Chun Keun, Seung Hwan BYUN, Song Hak KIM, Do Kyung LEE a Jae Yun JAUNG. Synthesis and optical properties of tetrapyrrazino-porphyrazines containing camphorquinone group. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines* [online]. 2012, 13(07), 794-797 [cit. 2020-12-15]. ISSN 1088-4246. Dostupné z: doi:10.1142/S1088424609000991
- [85] ALVIM, H, A ALECIO, W VASCONCELLOS, M FURLAN, J DEOLIVEIRA a J SAAD. Analysis of camphorquinone in composite resins as a function of shade. *Dental Materials* [online]. 2007, 23(10), 1245-1249 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2006.11.002
- [86] Camphorquinone. PubChem [online]. USA [cit. 2021-5-23]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Camphorquinone#section=Synonyms>
- [87] Dr. Shweta Singh, Dr. B Rajkumar, Dr. Vishesh Gupta, Dr. Akanksha Bhatt. Current photo-initiators in dental materials. *Int J Appl Dent Sci* 2017;3(1):17-20.
- [88] CHANG, Mei-Chi, Li-Deh LIN, Min-Tsz WU, et al. Effects of Camphorquinone on Cytotoxicity, Cell Cycle Regulation and Prostaglandin E2 Production of Dental Pulp Cells: Role of ROS, ATM/Chk2, MEK/ERK and Hemeoxygenase-1. *PLOS ONE* [online]. 2015, 10(12) [cit. 2020-12-15]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0143663
- [89] KIM, Reuben H., Drake W. WILLIAMS, Susan BAE, et al. Camphorquinone Inhibits Odontogenic Differentiation of Dental Pulp Cells and Triggers Release of Inflammatory Cytokines. *Journal of Endodontics* [online]. 2013, 39(1), 57-61 [cit. 2020-12-15]. ISSN 00992399. Dostupné z: doi:10.1016/j.joen.2012.09.006
- [90] Mousavinasab SM. Biocompatibility of composite resins. *Dental Research Journal*. 2011 Dec;8(Suppl 1):S21-9.

- [91] DATAR, Rahul A., Fredrick A. RUEGGEBERG, Gretchen B. CAUGHMAN, John C. WATAHA, Jill B. LEWIS a George S. SCHUSTER. Effects of sub-toxic concentrations of camphorquinone on cell lipid metabolism. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* [online]. 2012, 16(10), 1293-1302 [cit. 2020-12-15]. ISSN 0920-5063. Dostupné z: doi:10.1163/156856205774269557
- [92] WESSELS, Miriam, Julia RIMKUS, Gabriele LEYHAUSEN, Joachim VOLK a Werner GEURTSSEN. Genotoxic effects of camphorquinone and DMT on human oral and intestinal cells. *Dental Materials* [online]. 2015, 31(10), 1159-1168 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2015.06.007
- [93] 3M™ ESPE™ Scotchbond™ Universal Intro Kit Safety Data Sheet. USA, 2015. Dostupné také z: https://multimedia.3m.com/mws/mediawebserver?mwsId=SSSSSuUn_zu8l00xMY_eN8mGov70k17zHvu9lxtD7SSSSSS--
- [94] SPAHL, W., H. BUDZIKIEWICZ a W. GEURTSSEN. Determination of leachable components from four commercial dental composites by gas and liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of Dentistry* [online]. 1998, 26(2), 137-145 [cit. 2020-12-15]. ISSN 03005712. Dostupné z: doi:10.1016/S0300-5712(96)00086-3
- [95] SPAHL, W. a H. BUDZIKIEWICZ. Qualitative analysis of dental resin composites by gas and liquid chromatography/mass spectrometry. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* [online]. 1994, 350(12), 684-691 [cit. 2021-5-23]. ISSN 0937-0633. Dostupné z: doi:10.1007/BF00323665
- [96] PUTZEYS, Eveline, Stevan M. COKIC, Hui CHONG, et al. Simultaneous analysis of bisphenol A based compounds and other monomers leaching from resin-based dental materials by UHPLC-MS/MS. *Journal of Separation Science* [online]. 2017, 40(5), 1063-1075 [cit. 2020-12-15]. ISSN 16159306. Dostupné z: doi:10.1002/jssc.201601153
- [97] VOUZARA, Triantafyllia, Konstantina ROUSSOU, Alexandros K. NIKOLAIDIS, Kosmas TOLIDIS a Elisabeth A. KOULAOUZIDOU. Organic Eluates Derived from Intermediate Restorative Dental Materials. *Molecules* [online]. 2020, 25(7) [cit. 2020-12-15]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25071593
- [98] Bittencourt BF, Dominguez JA, Farago PV, Pinheiro LA, Gomes OM. Alternative cointiators applicable to photocurable resin composites. *Oral Health Dent Manag.* 2014 Sep;13(3):568-72. PMID: 25284513.
- [99] SCHROEDER, W a C VALLO. Effect of different photoinitiator systems on conversion profiles of a model unfilled light-cured resin. *Dental Materials* [online]. 2007, 23(10), 1313-1321 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2006.11.010
- [100] NICHOLSON, John a Beata CZARNECKA. Composite resins. *Materials for the Direct Restoration of Teeth* [online]. Elsevier, 2016, 2016, , 37-67 [cit. 2020-12-15]. ISBN 9780081004913. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-100491-3.00003-9
- [101] GE, Xueping, Qiang YE, Linyong SONG, Jennifer S. LAURENCE a Paulette SPENCER. Synthesis and Evaluation of a Novel Co-Initiator for Dentin Adhesives: Polymerization Kinetics and Leachables Study. *JOM* [online]. 2015, 67(4), 796-803 [cit. 2020-12-15]. ISSN 1047-4838. Dostupné z: doi:10.1007/s11837-015-1335-6

- [102] BRANDT, William Cunha, Luis Felipe Jochims SCHNEIDER, Elisabete FROLLINI, Lourenço CORRER-SOBRINHO a Mário Alexandre Coelho SINHORETI. Effect of different photo-initiators and light curing units on degree of conversion of composites. *Brazilian Oral Research* [online]. 2010, 24(3), 263-270 [cit. 2020-12-15]. ISSN 1806-8324. Dostupné z: doi:10.1590/S1806-83242010000300002
- [103] BINDU, M.G., Bhabani K. SATAPATHY, Harjeet S. JAGGI a Alok R. RAY. Size-scale effects of silica on bis-GMA/TEGDMA based nanohybrid dental restorative composites. *Composites Part B: Engineering* [online]. 2013, 53, 92-102 [cit. 2020-12-15]. ISSN 13598368. Dostupné z: doi:10.1016/j.compositesb.2013.04.046
- [104] ALVIM, H, A ALECIO, W VASCONCELLOS, M FURLAN, J DEOLIVEIRA a J SAAD. Analysis of camphorquinone in composite resins as a function of shade. *Dental Materials* [online]. 2007, 23(10), 1245-1249 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2006.11.002
- [105] ILIE, Nicoleta a Reinhard HICKEL. Can CQ Be Completely Replaced by Alternative Initiators in Dental Adhesives? *Dental Materials Journal* [online]. 2008, 27(2), 221-228 [cit. 2020-12-15]. ISSN 0287-4547. Dostupné z: doi:10.4012/dmj.27.221
- [106] PRATAP, Bhanu, Ravi Kant GUPTA, Bhuvnesh BHARDWAJ a Meetu NAG. Resin based restorative dental materials: characteristics and future perspectives. *Japanese Dental Science Review* [online]. 2019, 55(1), 126-138 [cit. 2020-12-15]. ISSN 18827616. Dostupné z: doi:10.1016/j.jdsr.2019.09.004
- [107] DMAEMA SAFETY DATA SHEET. USA, 2009. Dostupné také z: <https://www.fishersci.se/store/msds?partNumber=10226270&productDescription=1KG+2-%28Dimethylamino%29ethyl+methacrylate%2C+99%25%2C+stabilized&countryCode=SE&language=en>
- [108] DMAEMA Bezpečnostní list. USA, 2021. Dostupné také z: <https://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=CZ&language=cs&productNumber=234907&brand=ALDRICH&PageToGoToURL=https%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fproduct%2Faldrich%2F234907%3Flang%3Den>
- [109] ABEBE, Worku, William F. MADDUX, George S. SCHUSTER a Jill B. LEWIS. Vascular responsiveness to dimethylaminoethyl methacrylate and its degradation products. *Journal of Biomedical Materials Research* [online]. 2003, 66A(1), 155-161 [cit. 2021-5-23]. ISSN 0021-9304. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.a.10568
- [110] SCHNEIDER, Luis Felipe J., Larissa Maria CAVALCANTE, Scott A. PRAHL, Carmem S. PFEIFER a Jack L. FERRACANE. Curing efficiency of dental resin composites formulated with camphorquinone or trimethylbenzoyl-diphenyl-phosphine oxide. *Dental Materials* [online]. 2012, 28(4), 392-397 [cit. 2021-5-23]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2011.11.014
- [111] Jan, C.M., Nomura, Y., Urabe, H., Okazaki, M. and Shintani, H. (2001), The relationship between leachability of polymerization initiator and degree of conversion of visible light-cured resin. *J. Biomed. Mater. Res.*, 58: 42-46. [https://doi.org/10.1002/1097-4636\(2001\)58:1<42::AID-JBM60>3.0.CO;2-#](https://doi.org/10.1002/1097-4636(2001)58:1<42::AID-JBM60>3.0.CO;2-#)

- [112] KAZANTSEV, Oleg A., Dmitry V. OREKHOV, Alexey P. SIVOKHIN, Denis M. KAMORIN a Maria V. SAVINOVA. Concentration effects in the base-catalyzed hydrolysis of oligo(ethylene glycol)- and amine-containing methacrylic monomers. *Designed Monomers and Polymers* [online]. 2017, 20(1), 136-143 [cit. 2021-5-24]. ISSN 1568-5551. Dostupné z: doi:10.1080/15685551.2016.1231034
- [113] VERVLIT, Philippe, Siemon DE NYS, Imke BOONEN, Radu Corneliu DUCA, Marc ELSKENS, Kirsten L. VAN LANDUYT a Adrian COVACI. Qualitative analysis of dental material ingredients, composite resins and sealants using liquid chromatography coupled to quadrupole time of flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. 2018, 1576, 90-100 [cit. 2020-12-15]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2018.09.039
- [114] FERRACANE, Jack L. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. *Dental Materials* [online]. 2006, 22(3), 211-222 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2005.05.005
- [115] YAP, A. Release of methacrylic acid from dental composites. *Dental Materials* [online]. 16(3), 172-179 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/S0109-5641(00)00004-X
- [116] VERVLIT, Philippe, Jens Van DEN PLAS, Siemon DE NYS, Radu Corneliu DUCA, Imke BOONEN, Marc ELSKENS, Kirsten L. VAN LANDUYT a Adrian COVACI. Investigating the in vitro metabolism of the dental resin monomers BisGMA, BisPMA, TCD-DI-HEA and UDMA using human liver microsomes and quadrupole time of flight mass spectrometry. *Toxicology* [online]. 2019, 420, 1-10 [cit. 2020-12-15]. ISSN 0300483X. Dostupné z: doi:10.1016/j.tox.2019.03.007
- [117] SUH, H.-J., M.-S. CHUNG, Y.-H. CHO, J.-W. KIM, D.-H. KIM, K.-W. HAN a C.-J. KIM. Estimated daily intakes of butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) and tert -butyl hydroquinone (TBHQ) antioxidants in Korea. *Food Additives and Contaminants* [online]. 2005, 22(12), 1176-1188 [cit. 2020-12-15]. ISSN 0265-203X. Dostupné z: doi:10.1080/02652030500195288
- [118] WANG, Wei, Pranav KANNAN, Jingchuan XUE a Kurunthachalam KANNAN. Synthetic phenolic antioxidants, including butylated hydroxytoluene (BHT), in resin-based dental sealants. *Environmental Research* [online]. 2016, 151, 339-343 [cit. 2020-12-15]. ISSN 00139351. Dostupné z: doi:10.1016/j.envres.2016.07.042
- [119] HADIS, Mohammed A., Adrian C. SHORTALL a William M. PALIN. Competitive light absorbers in photoactive dental resin-based materials. *Dental Materials* [online]. 2012, 28(8), 831-841 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2012.04.029
- [120] Butylated hydroxytoluene. *PubChem* [online]. USA [cit. 2021-5-24]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/31404>
- [121] SEISS, Mario, Christopher LANGER, Reinhard HICKEL a Franz-Xaver REICHL. Quantitative determination of TEGDMA, BHT, and DMABEE in eluates from polymerized resin-based dental restorative materials by use of GC/MS. *Archives of Toxicology* [online]. 2009, 83(12), 1109-1115 [cit. 2020-12-15]. ISSN 0340-5761. Dostupné z: doi:10.1007/s00204-009-0470-7

- [122] Safety Data Sheet BHT. USA, 2018. Dostupné také z: <https://www.caymanchem.com/msdss/89910m.pdf>
- [123] Butylated hydroxytoluene - Safety Data Sheet. Německo, 2017. Dostupné také z: <https://www.carlroth.com/medias/SDB-NC05-AU-EN.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wyMzA1NjF8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oYTUvaGNhLzg5Njk3NzM5NDA3NjYucGRmfDJIMWMzMMDI1NWQxOTRkZmY5ZTI3YzMyNGQyYmUzOGQ0YWE0MWI4MmQ4MDRmMGU5MjgxNDg4MTdkMDViOWIxOWI>
- [124] TAO, Bo, Gang WANG, Zongning YIN, et al. Determination of the Contents of Antioxidants and Their Degradation Products in Sodium Chloride Injection for Blood Transfusion. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* [online]. 2020, 2020, 1-12 [cit. 2021-5-24]. ISSN 2090-8865. Dostupné z: doi:10.1155/2020/8869576
- [125] LEE, Maw-Rong, Chueh-Yu LIN, Zu-Guang LI a Tzu-Feng TSAI. Simultaneous analysis of antioxidants and preservatives in cosmetics by supercritical fluid extraction combined with liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. 2006, 1120(1-2), 244-251 [cit. 2021-5-24]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2006.01.075
- [126] TAUSCHER, Sven, Jörg ANGERMANN, Yohann CATEL a Norbert MOSZNER. Evaluation of alternative monomers to HEMA for dental applications. *Dental Materials* [online]. 2017, 33(7), 857-865 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2017.04.023
- [127] VAN LANDUYT, K.L., J. SNAUWAERT, M. PEUMANS, J. DE MUNCK, P. LAMBRECHTS a B. VAN MEERBEEK. The role of HEMA in one-step self-etch adhesives. *Dental Materials* [online]. 2008, 24(10), 1412-1419 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2008.02.018
- [128] ZANCHI, Cesar Henrique, Eliseu Aldrigh MÜNCHOW, Fabricio Aulo OGLIARI, Stefano CHERSONI, Carlo PRATI, Flávio Fernando DEMARCO a Evandro PIVA. Development of experimental HEMA-free three-step adhesive system. *Journal of Dentistry* [online]. 2010, 38(6), 503-508 [cit. 2020-12-15]. ISSN 03005712. Dostupné z: doi:10.1016/j.jdent.2010.03.006
- [129] HEMA - Safety Data Sheet. Velká Británie, 2019. Dostupné také z: [http://www.geosc.com/Assets/Files/MSDS-Files/BISOMER-HEMA-\(1\)/SDS-745757-BISOMER-HEMA-CLPS-EN.pdf](http://www.geosc.com/Assets/Files/MSDS-Files/BISOMER-HEMA-(1)/SDS-745757-BISOMER-HEMA-CLPS-EN.pdf)
- [130] DURNER, Jürgen, Udo I. WALTHER, Johannes ZASPEL, Reinhard HICKEL a Franz-Xaver REICHL. Metabolism of TEGDMA and HEMA in human cells. *Biomaterials* [online]. 2010, 31(5), 818-823 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2009.09.097
- [131] CHANG, H. Stimulation of glutathione depletion, ROS production and cell cycle arrest of dental pulp cells and gingival epithelial cells by HEMA. *Biomaterials* [online]. 2005, 26(7), 745-753 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2004.03.021

- [132] SZCZEPANSKA, Joanna, Tomasz POPLAWSKI, Ewelina SYNOWIEC, Elzbieta PAWLOWSKA, Cezary J. CHOJNACKI, Jan CHOJNACKI a Janusz BLASIAK. 2-Hydroxyethyl methacrylate (HEMA), a tooth restoration component, exerts its genotoxic effects in human gingival fibroblasts through methacrylic acid, an immediate product of its degradation. *Molecular Biology Reports* [online]. 2012, 39(2), 1561-1574 [cit. 2020-12-15]. ISSN 0301-4851. Dostupné z: doi:10.1007/s11033-011-0895-y
- [133] NICHOLSON, J a B CZARNECKA. The biocompatibility of resin-modified glass-ionomer cements for dentistry. *Dental Materials* [online]. 2008, 24(12), 1702-1708 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2008.04.005
- [134] HEMA - Safety Data Sheet. USA, 2018. Dostupné také z: <https://www.fishersci.com/store/msds?partNumber=AC156330010&productDescription=2-HYDROXYETHYL+METHACRYL+1KG&vendorId=VN00032119&countryCode=US&language=en>
- [135] TESHIMA, Wataru, Yuji NOMURA, Atsuharu IKEDA, Toshiya KAWAHARA, Masayuki OKAZAKI a Yukinori NAHARA. Thermal degradation of photo-polymerized BisGMA/TEGDMA-based dental resins. *Polymer Degradation and Stability* [online]. 2004, 84(1), 167-172 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymdegradstab.2003.10.007
- [136] PUTZEYS, Eveline, Siemon De NYS, Stevan M. COKIC, Radu Corneliu DUCA, Jeroen VANOIRBEEK, Lode GODDERIS, Bart Van MEERBEEK a Kirsten L. VAN LANDUYT. Long-term elution of monomers from resin-based dental composites. *Dental Materials* [online]. 2019, 35(3), 477-485 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2019.01.005
- [137] DURSUN, Elisabeth, Hélène FRON-CHABOUI, Jean-Pierre ATTAL a Anne RASKIN. Bisphenol A Release: Survey of the Composition of Dental Composite Resins. *The Open Dentistry Journal* [online]. 2016, 10(1), 446-453 [cit. 2020-12-15]. ISSN 1874-2106. Dostupné z: doi:10.2174/1874210601610010446
- [138] GONZALEZ-BONET, Andres, Gili KAUFMAN, Yin YANG, Christopher WONG, Abigail JACKSON, George HUYANG, Rafael BOWEN a Jirun SUN. Preparation of Dental Resins Resistant to Enzymatic and Hydrolytic Degradation in Oral Environments. *Biomacromolecules* [online]. 2015, 16(10), 3381-3388 [cit. 2021-5-24]. ISSN 1525-7797. Dostupné z: doi:10.1021/acs.biomac.5b01069
- [139] BEUN, Sébastien, Christian BAILLY, Anne DABIN, José VREVEN, Jacques DEVAUX a Gaëtane LELOUP. Rheological properties of experimental Bis-GMA/TEGDMA flowable resin composites with various macrofiller/microfiller ratio. *Dental Materials* [online]. 2009, 25(2), 198-205 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2008.06.001
- [140] TIAN, M, Y GAO, Y LIU, Y LIAO, N HEDIN a H FONG. Fabrication and evaluation of Bis-GMA/TEGDMA dental resins/composites containing nano fibrillar silicate. *Dental Materials* [online]. 2008, 24(2), 235-243 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2007.05.002

- [141] GONÇALVES, Flávia, Yoshio KAWANO, Carmem PFEIFER, Jeffrey W. STANSBURY a Roberto R. BRAGA. Influence of BisGMA, TEGDMA, and BisEMA contents on viscosity, conversion, and flexural strength of experimental resins and composites. *European Journal of Oral Sciences* [online]. 2009, 117(4), 442-446 [cit. 2020-12-15]. ISSN 09098836. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0722.2009.00636.x
- [142] ASMUSSEN, Erik a Anne PEUTZFELDT. Influence of UEDMA, BisGMA and TEGDMA on selected mechanical properties of experimental resin composites. *Dental Materials* [online]. 1998, 14(1), 51-56 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/S0109-5641(98)00009-8
- [143] FEILZER, A.J. a B.S. DAUVILLIER. Effect of TEGDMA/BisGMA Ratio on Stress Development and Viscoelastic Properties of Experimental Two-paste Composites. *Journal of Dental Research* [online]. 2016, 82(10), 824-828 [cit. 2020-12-15]. ISSN 0022-0345. Dostupné z: doi:10.1177/154405910308201012
- [144] MICHELSEN, Vibeke B., Grete MOE, Morten B. STRØM, Einar JENSEN a Henning LYGRE. Quantitative analysis of TEGDMA and HEMA eluted into saliva from two dental composites by use of GC/MS and tailor-made internal standards. *Dental Materials* [online]. 2008, 24(6), 724-731 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2007.08.002
- [145] ALRAHLAH, Ali, Abdel-Basit AL-ODAYNI, Haifa Fahad AL-MUTAIRI, Bashaer Mousa ALMOUSA, Faisal S. ALSUBAIE, Rawaiz KHAN a Waseem Sharaf SAEED. A Low-Viscosity BisGMA Derivative for Resin Composites: Synthesis, Characterization, and Evaluation of Its Rheological Properties. *Materials* [online]. 2021, 14(2) [cit. 2021-5-24]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma14020338
- [146] TEGDMA Safety Data Sheet. Velká Británie, 2020. Dostupné také z: [https://www.geosc.com/Assets/Files/MSDS-Files/BISOMER-TEGDMA-\(1\)/SDS-745792-BISOMER-TEGDMA-CLPS-EN.pdf](https://www.geosc.com/Assets/Files/MSDS-Files/BISOMER-TEGDMA-(1)/SDS-745792-BISOMER-TEGDMA-CLPS-EN.pdf)
- [147] VAN DIJKEN, Jan W.V. a Ulla PALLESEN. Durability of a low shrinkage TEGDMA/HEMA-free resin composite system in Class II restorations. A 6-year follow up. *Dental Materials* [online]. 2017, 33(8), 944-953 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2017.04.021
- [148] 3M™ ESPE™ 8716 RelyX™ Veneer Cement Intro Kit with Universal Etchant/Adhesive - Safety Data Sheet. USA, 2020. Dostupné také z: https://multimedia.3m.com/mws/mediawebserver?mwsId=SSSSSuUn_zu8l00xmxtZnxtSMv70k17zHvu9lxtD7SSSSSS--
- [149] FINER, Y. a J.P. SANTERRE. Influence of silanated filler content on the biodegradation of bisGMA/TEGDMA dental composite resins. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* [online]. 2007, 81A(1), 75-84 [cit. 2021-5-24]. ISSN 15493296. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.a.31004
- [150] POLYDOROU, Olga, Catherine HUBERTY, Martin WOLKEWITZ, Richard BOLEK, Elmar HELLWIG a Klaus KÜMMERER. The effect of storage medium on the elution of monomers from composite materials. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* [online]. 2012, 100B(1), 68-74 [cit. 2021-5-24]. ISSN 15524973. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.b.31923

- [151] POLYDOROU, Olga, Mohammad HAMMAD, Armin KÖNIG, Elmar HELLOWIG a Klaus KÜMMERER. Release of monomers from different core build-up materials. *Dental Materials* [online]. 2009, 25(9), 1090-1095 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2009.02.014
- [152] ATAI, M, D WATTS a Z ATAI. Shrinkage strain-rates of dental resin-monomer and composite systems. *Biomaterials* [online]. 2005, 26(24), 5015-5020 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2005.01.022
- [153] DU, Minhui a Ying ZHENG. Modification of silica nanoparticles and their application in UDMA dental polymeric composites. *Polymer Composites* [online]. 2007, 28(2), 198-207 [cit. 2020-12-15]. ISSN 02728397. Dostupné z: doi:10.1002/pc.20377
- [154] ALSHALI, Ruwaida Z., Nesreen A. SALIM, Rehana SUNG, Julian D. SATTERTHWAITE a Nick SILIKAS. Qualitative and quantitative characterization of monomers of uncured bulk-fill and conventional resin-composites using liquid chromatography/mass spectrometry. *Dental Materials* [online]. 2015, 31(6), 711-720 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2015.03.010
- [155] LEE, Jong Keun, Joo-Yeol CHOI, Bum-Soon LIM, Yong-Keun LEE a Ronald L. SAKAGUCHI. Change of properties during storage of a UDMA/TEGDMA dental resin. *Journal of Biomedical Materials Research* [online]. 2004, 68B(2), 216-221 [cit. 2020-12-15]. ISSN 0021-9304. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.b.20022
- [156] GAJEWSKI, Vinícius E. S., Carmem S. PFEIFER, Nívea R. G. FRÓES-SALGADO, Letícia C. C. BOARO a Roberto R. BRAGA. Monomers Used in Resin Composites: Degree of Conversion, Mechanical Properties and Water Sorption/Solubility. *Brazilian Dental Journal* 23(5). 2012, , 508-514. ISSN 0103-6440. Dostupné také z: <http://www.scielo.br/pdf/bdj/v23n5/v23n05a07.pdf>
- [157] FLOYD, Cynthia J.E. a Sabine H. DICKENS. Network structure of Bis-GMA- and UDMA-based resin systems. *Dental Materials* [online]. 2006, 22(12), 1143-1149 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2005.10.009
- [158] UDMA - Safety Data Sheet. USA, 2015. Dostupné také z: <https://www.parchem.com/siteimages/Attachment/GHS%20Diurethane%20Dimethacrylate%20MSDS.pdf>
- [159] SIDERIDOU, Irini D. a Dimitris S. ACHILIAS. Elution study of unreacted Bis-GMA, TEGDMA, UDMA, and Bis-EMA from light-cured dental resins and resin composites using HPLC. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* [online]. 2005, 74B(1), 617-626 [cit. 2020-12-15]. ISSN 1552-4973. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.b.30252
- [160] MOHARAMZADEH, Keyvan, Richard VAN NOORT, Ian M. BROOK a Andy M. SCUTT. Cytotoxicity of resin monomers on human gingival fibroblasts and HaCaT keratinocytes. *Dental Materials* [online]. 2007, 23(1), 40-44 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2005.11.039
- [161] REICHL, Franz-Xaver, Magali ESTERS, Sabine SIMON, et al. Cell death effects of resin-based dental material compounds and mercurials in human gingival fibroblasts. *Archives of Toxicology* [online]. 2006, 80(6), 370-377 [cit. 2020-12-15]. ISSN 0340-5761. Dostupné z: doi:10.1007/s00204-005-0044-2

- [162] Abouelleil, Hazem & Attik, Nina & Jeanin, Christophe & Colon, Pierre & Grosgeat, Brigitte. (2015). Potential Toxicity of Bisphenol A and Other Related Substances in Dental Restorative Resins. *Journal of Oral Science and Health*. 2. 10.17653/2374-9075.SS0006.
- [163] HSU, Wei-Yi, Ven-Shing WANG, Chien-Chen LAI a Fuu-Jen TSAI. Simultaneous determination of components released from dental composite resins in human saliva by liquid chromatography/multiple-stage ion trap mass spectrometry. *ELECTROPHORESIS* [online]. 2012, 33(4), 719-725 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01730835. Dostupné z: doi:10.1002/elps.201100571
- [164] ATAI, M, M NEKOOMANESH, S HASHEMI a S AMANI. Physical and mechanical properties of an experimental dental composite based on a new monomer. *Dental Materials* [online]. 2004, 20(7), 663-668 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2003.08.008
- [165] FONG, Hao. Electrospun nylon 6 nanofiber reinforced BIS-GMA/TEGDMA dental restorative composite resins. *Polymer* [online]. 2004, 45(7), 2427-2432 [cit. 2020-12-15]. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2004.01.067
- [166] AL-HIYASAT, Ahmad S. a Homa DARMANI. In vivo effects of BISGMA—a component of dental composite—on male mouse reproduction and fertility. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* [online]. 2006, 78A(1), 66-72 [cit. 2020-12-15]. ISSN 1549-3296. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.a.30667
- [167] POLYDOROU, O, R TRITTLER, E HELLWIG a K KUMMERER. Elution of monomers from two conventional dental composite materials. *Dental Materials* [online]. 2007, 23(12), 1535-1541 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2006.12.011
- [168] BARSZCZEWSKA-RYBAREK, Izabela Maria. A Guide through the Dental Dimethacrylate Polymer Network Structural Characterization and Interpretation of Physico-Mechanical Properties. *Materials* [online]. 2019, 12(24) [cit. 2021-5-24]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma12244057
- [169] KOIN, P.J., A. KILISLIOGLU, M. ZHOU, J.L. DRUMMOND a L. HANLEY. Analysis of the Degradation of a Model Dental Composite. *Journal of Dental Research* [online]. 2008, 87(7), 661-665 [cit. 2020-12-15]. ISSN 0022-0345. Dostupné z: doi:10.1177/154405910808700712
- [170] COKIC, S.M., R.C. DUCA, L. GODDERIS, P.H. HOET, J.W. SEO, B. VAN MEERBEEK a K.L. VAN LANDUYT. Release of monomers from composite dust. *Journal of Dentistry* [online]. 2017, 60, 56-62 [cit. 2021-5-24]. ISSN 03005712. Dostupné z: doi:10.1016/j.jdent.2017.02.016
- [171] GAJEWSKI, Vinícius E. S., Carmem S. PFEIFER, Nívea R. G. FRÓES-SALGADO, Letícia C. C. BOARO a Roberto R. BRAGA. Monomers used in resin composites: degree of conversion, mechanical properties and water sorption/solubility. *Brazilian Dental Journal* [online]. 2012, 23(5), 508-514 [cit. 2020-12-15]. ISSN 0103-6440. Dostupné z: doi:10.1590/S0103-64402012000500007

- [172] COKIC, Stevan M., Radu C. DUCA, Jan DE MUNCK, Peter HOET, Bart VAN MEERBEEK, Mario SMET, Lode GODDERIS a Kirsten L. VAN LANDUYT. Saturation reduces in-vitro leakage of monomers from composites. *Dental Materials* [online]. 2018, 34(4), 579-586 [cit. 2020-12-15]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2018.01.005
- [173] NIMCHAROENSUK, Kanin, Niwat ANUWONGNUKROH, Surachai DECHKUNAKORN, Vanthana SATTABANASUK, Panya SUNINTABOON a Wassana WICHAJ. Cytotoxicity of an Experimental Light-Cured Orthodontic Adhesive. *Solid State Phenomena* [online]. 2019, 294, 65-70 [cit. 2021-5-24]. ISSN 1662-9779. Dostupné z: doi:10.4028/www.scientific.net/SSP.294.65
- [174] 3M™ ESPE™ FILTEK™ Z350 XT UNIVERSAL RESTORATIVE DUAL SHADE KIT - Safety Data Sheet. USA, 2020. Dostupné také z: https://multimedia.3m.com/mws/mediawebserver?SSSSSuUn_zu8l00xM82BMYt1Mv70k17zHvu9lxtD7SSSSSS--
- [175] DURNER, Jürgen, Klaus SCHRICKEL, David C. WATTS a Nicoleta ILIE. Determination of homologous distributions of bisEMA dimethacrylates in bulk-fill resin-composites by GC–MS. *Dental Materials* [online]. 2015, 31(4), 473-480 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2015.02.006
- [176] LIN, Benjamin A., Fayaaz JAFFER, Missy D. DUFF, Yi Wen TANG a J. Paul SANTERRE. Identifying enzyme activities within human saliva which are relevant to dental resin composite biodegradation. *Biomaterials* [online]. 2005, 26(20), 4259-4264 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2004.11.001
- [177] JAFFER, F., Y. FINER a J.P. SANTERRE. Interactions between resin monomers and commercial composite resins with human saliva derived esterases. *Biomaterials* [online]. 2002, 23(7), 1707-1719 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/S0142-9612(01)00298-8
- [178] FINER, Y. a J. P. SANTERRE. The influence of resin chemistry on a dental composite's biodegradation. *Journal of Biomedical Materials Research* [online]. 2004, 69A(2), 233-246 [cit. 2021-5-24]. ISSN 0021-9304. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.a.30000
- [179] FINER, Y, F JAFFER a J.P SANTERRE. Mutual influence of cholesterol esterase and pseudocholinesterase on the biodegradation of dental composites. *Biomaterials* [online]. 2004, 25(10), 1787-1793 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2003.08.029
- [180] MACAULAY, M., L.E. TAM, J.P. SANTERRE a Y. FINER. In Vivo Biodegradation of bisGMA and Urethane-Modified bisGMA-Based Resin Composite Materials [online]. 2017, 2(4), 397-405 [cit. 2021-5-24]. ISSN 2380-0844. Dostupné z: doi:10.1177/2380084417722117
- [181] FINER, Yoav. THE INnUENCE OF RESIN CHEMISTRY ON A COMPOSITE'S INHERENT BIOCHEMICAL STABILITY [online]. Kanda, 2000 [cit. 2021-5-24]. Dostupné z: <https://tspace.library.utoronto.ca/bitstream/1807/13971/1/NQ50048.pdf>. Dizertační práce. The Institute of Biomateriais and Biomedical Engineering University of Toronto.

- [182] GOLDBERG, Michel, Sasha DIMITROVA-NAKOV a Gottfried SCHMALZ. BPA from dental resin material: where are we going with restorative and preventive dental biomaterials? *Clinical Oral Investigations* [online]. 2014, 18(2), 347-349 [cit. 2021-5-24]. ISSN 1432-6981. Dostupné z: doi:10.1007/s00784-013-1153-6
- [183] PULGAR, R, M F OLEA-SERRANO, A NOVILLO-FERTRELL, A RIVAS, P PAZOS, V PEDRAZA, J M NAVAJAS a N OLEA. Determination of bisphenol A and related aromatic compounds released from bis-GMA-based composites and sealants by high performance liquid chromatography. *Environmental Health Perspectives* [online]. 2000, 108(1), 21-27 [cit. 2021-5-24]. ISSN 0091-6765. Dostupné z: doi:10.1289/ehp.0010821
- [184] Geueke, B. (2015, November 9). FPF Dossier: Bisphenol A. Zenodo. <http://doi.org/10.5281/zenodo.33495>
- [185] OHORE, Okugbe E. a Songhe ZHANG. Endocrine disrupting effects of bisphenol A exposure and recent advances on its removal by water treatment systems. A review. *Scientific African* [online]. 2019, 5 [cit. 2021-5-24]. ISSN 24682276. Dostupné z: doi:10.1016/j.sciaf.2019.e00135
- [186] PONGPRUEKSA, Pong, Jan DE MUNCK, Radu Corneliu DUCA, et al. Monomer elution in relation to degree of conversion for different types of composite. *Journal of Dentistry* [online]. 2015, 43(12), 1448-1455 [cit. 2021-5-24]. ISSN 03005712. Dostupné z: doi:10.1016/j.jdent.2015.10.013
- [187] FLEISCH, A. F., P. E. SHEFFIELD, C. CHINN, B. L. EDELSTEIN a P. J. LANDRIGAN. Bisphenol A and Related Compounds in Dental Materials. *PEDIATRICS* [online]. 2010, 126(4), 760-768 [cit. 2021-5-24]. ISSN 0031-4005. Dostupné z: doi:10.1542/peds.2009-2693
- [188] BECHER, Rune, Hanne WELLENDORF, Amrit Kaur SAKHI, Jan Tore SAMUELSEN, Cathrine THOMSEN, Anette Kocbach BØLLING a Hilde Molvig KOPPERUD. Presence and leaching of bisphenol a (BPA) from dental materials. *Acta Biomaterialia Odontologica Scandinavica* [online]. 2018, 4(1), 56-62 [cit. 2021-5-24]. ISSN 2333-7931. Dostupné z: doi:10.1080/23337931.2018.1476869
- [189] ATTIK, Nina, Franck HALLAY, Laurence BOIS, Arnaud BRIOUDE, Brigitte GROSGOGEAT a Pierre COLON. Mesoporous silica fillers and resin composition effect on dental composites cytocompatibility. *Dental Materials* [online]. 2017, 33(2), 166-174 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2016.11.009
- [190] ELADAK, Soria, Tiphany GRISIN, Delphine MOISON, et al. A new chapter in the bisphenol A story: bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound. *Fertility and Sterility* [online]. 2015, 103(1), 11-21 [cit. 2021-5-24]. ISSN 00150282. Dostupné z: doi:10.1016/j.fertnstert.2014.11.005
- [191] RUBIN, Beverly S. Bisphenol A: An endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* [online]. 2011, 127(1-2), 27-34 [cit. 2021-5-24]. ISSN 09600760. Dostupné z: doi:10.1016/j.jsbmb.2011.05.002

- [192] POLYDOROU, Olga, Ole-Christian SCHMIDT, Mathias SPRAUL, Kirstin VACH, Simon Daniel SCHULZ, Armin KÖNIG, Elmar HELLWIG a Richard GMINSKI. Detection of Bisphenol A in dental wastewater after grinding of dental resin composites. *Dental Materials* [online]. 2020, 36(8), 1009-1018 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2020.04.025
- [193] Toxicity of BPA. European Chemical Agency [online]. EU [cit. 2021-5-24]. Dostupné z: <https://echa.europa.eu/cs/registration-dossier/-/registered-dossier/15752/7/3/1>
- [194] Bisphenol A (BPA). ChemSafetyPRO [online]. EU, 2016 [cit. 2021-5-24]. Dostupné z: [https://www.chemsafetypro.com/Topics/Restriction/Bisphenol_A_\(BPA\).html](https://www.chemsafetypro.com/Topics/Restriction/Bisphenol_A_(BPA).html)
- [195] DURNER, Jürgen, Marija STOJANOVIC, Ebru URCAN, Reinhard HICKEL a Franx-Xaver REICHL. Influence of silver nano-particles on monomer elution from light-cured composites. *Dental Materials* [online]. 2011, 27(7), 631-636 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2011.03.003
- [196] BS EN ISO 10993-1:2018 Biological evaluation of medical devices. 5. Velká Británie: BSI, 2018.
- [197] ST. JOHN, Kenneth R. Biocompatibility of Dental Materials. *Dental Clinics of North America* [online]. 2007, 51(3), 747-760 [cit. 2021-5-24]. ISSN 00118532. Dostupné z: doi:10.1016/j.cden.2007.03.003
- [198] BS EN ISO 4049:2019 Dentistry. Polymer-based restorative materials. 5. Velká Británie: BSI, 2019.
- [199] BS EN ISO 7405:2018 Dentistry — Evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry. 6. Velká Británie: BSI, 2018.
- [200] POLYDOROU, Olga, Armin KÖNIG, Elmar HELLWIG a Klaus KÜMMERER. Long-term release of monomers from modern dental-composite materials. *European Journal of Oral Sciences* [online]. 2009, 117(1), 68-75 [cit. 2021-5-24]. ISSN 09098836. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0722.2008.00594.x
- [201] SAXENA, Payal, AdityaB PANT, SaurabhK GUPTA a VandanaA PANT. Release and toxicity of dental resin composite. *Toxicology International* [online]. 2012, 19(3) [cit. 2021-5-24]. ISSN 0971-6580. Dostupné z: doi:10.4103/0971-6580.103652
- [202] VAN LANDUYT, K.L., Tim NAWROT, B. GEEBELEN, et al. How much do resin-based dental materials release? A meta-analytical approach. *Dental Materials* [online]. 2011, 27(8), 723-747 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2011.05.001
- [203] ELLIOTT, J.E., L.G. LOVELL a C.N. BOWMAN. Primary cyclization in the polymerization of bis-GMA and TEGDMA: a modeling approach to understanding the cure of dental resins. *Dental Materials* [online]. 2001, 17(3), 221-229 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/S0109-5641(00)00075-0
- [204] TOLEDANO, Manuel, Raquel OSORIO, Estrella OSORIO, Victoria FUENTES, Carlo PRATI a Franklin GARCÍA-GODOY. Sorption and solubility of resin-based restorative dental materials. *Journal of Dentistry* [online]. 2003, 31(1), 43-50 [cit. 2021-5-24]. ISSN 03005712. Dostupné z: doi:10.1016/S0300-5712(02)00083-0

- [205] FERRACANE, J.L. Elution of leachable components from composites. *Journal of Oral Rehabilitation* [online]. 1994, 21(4), 441-452 [cit. 2021-5-24]. ISSN 0305-182X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2842.1994.tb01158.x
- [206] ASAOKA, Kenzo a Susumu HIRANO. Diffusion coefficient of water through dental composite resin. *Biomaterials* [online]. 2003, 24(6), 975-979 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/S0142-9612(02)00435-0
- [207] PARTHASARATHY, Ranganathan, Anil MISRA, Jonggu PARK, Qiang YE a Paulette SPENCER. Diffusion coefficients of water and leachables in methacrylate-based crosslinked polymers using absorption experiments. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* [online]. 2012, 23(5), 1157-1172 [cit. 2021-5-24]. ISSN 0957-4530. Dostupné z: doi:10.1007/s10856-012-4595-5
- [208] Tuna, Elif & Aktoren, Oya & Oshida, Yoshiaki & Gencay, Koray. (2010). Elution of residual monomers from dental composite materials. *European journal of paediatric dentistry : official journal of European Academy of Paediatric Dentistry*. 11. 110-4.
- [209] GÖPFERICH, A. Mechanisms of polymer degradation and erosion. *Biomaterials* [online]. 1996, 17(2), 103-114 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/0142-9612(96)85755-3
- [210] SANTERRE, J.P., L. SHAJII a B.W. LEUNG. Relation of Dental Composite Formulations To Their Degradation and the Release of Hydrolyzed Polymeric-Resin-Derived Products [online]. 2001, 12(2), 136-151 [cit. 2021-5-24]. ISSN 1045-4411. Dostupné z: doi:10.1177/10454411010120020401
- [211] PRAKKI, Anuradha, Renato CILLI, Rafael Francisco Lia MONDELLI, Sid KALACHANDRA a José Carlos PEREIRA. Influence of pH environment on polymer based dental material properties. *Journal of Dentistry* [online]. 2005, 33(2), 91-98 [cit. 2021-5-24]. ISSN 03005712. Dostupné z: doi:10.1016/j.jdent.2004.08.004
- [212] ORTENGREN, U., H. WELLENDORF, S. KARLSSON a I. E. RUYTER. Water sorption and solubility of dental composites and identification of monomers released in an aqueous environment. *Journal of Oral Rehabilitation* [online]. 2001, 28(12), 1106-1115 [cit. 2021-5-24]. ISSN 0305-182X. Dostupné z: doi:10.1046/j.1365-2842.2001.00802.x
- [213] ROGALEWICZ, Rafal, Kalina BATKO a Adam VOELKEL. Identification of organic extractables from commercial resin-modified glass-ionomers using HPLC-MS. *Journal of Environmental Monitoring* [online]. 2006, 8(7) [cit. 2021-5-24]. ISSN 1464-0325. Dostupné z: doi:10.1039/b604149c
- [214] What is the difference between many HPLC columns? Research Gate [online]. Jižní Korea, 2020 [cit. 2021-5-24]. Dostupné z: <https://www.researchgate.net/post/What-is-the-difference-between-many-HPLC-columns>
- [215] SCHWARTZ, Nancy. A C18 is a C18, right? Restek Pure Chromatography [online]. [cit. 2021-5-24]. Dostupné z: <https://blog.restek.com/a-c18-is-a-c18-right/>
- [216] A Comparison of Fully Porous C18 Reversed Phase HPLC Columns. PerkinElmer [online]. USA, 2020 [cit. 2021-5-24]. Dostupné z: <https://www.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/tch-comparison-of-fullyporousc18reversedphase-hplccolumns.pdf>

- [217] SCHULZ, Simon Daniel, Tobias LAQUAI, Klaus KÜMMERER, Richard BOLEK, Volker MERSCH-SUNDERMANN a Olga POLYDOROU. Elution of Monomers from Provisional Composite Materials. *International Journal of Polymer Science* [online]. 2015, 2015, 1-7 [cit. 2021-5-24]. ISSN 1687-9422. Dostupné z: doi:10.1155/2015/617407
- [218] KEALEY, D. a P. J. HAINES. *Analytical chemistry*. Oxford: BIOS, 2002. Instant notes series. ISBN 18-599-6189-4.
- [219] FIFIELD, F. W a D. KEALEY. *Principles and practice of analytical chemistry*. Malden, MA: Blackwell Science, c2000. ISBN 06-320-5384-4.
- [220] CHRISTIAN, Gary D, Purnendu K DASGUPTA a Kevin SCHUG. *Analytical chemistry*. 7th ed. Hoboken: Wiley, c2014. ISBN 978-047-0887-578.
- [221] DRBAL, Karel a Martin KRÍŽEK. *Analytická chemie*. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 1999. ISBN 80-704-0352-7.
- [222] ZÁRUBA, Kamil. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-950-1.
- [223] SWARTZ, Michael E. UPLC™: An Introduction and Review [online]. 2007, 28(7-8), 1253-1263 [cit. 2021-5-24]. ISSN 1082-6076. Dostupné z: doi:10.1081/JLC-200053046
- [224] Agilent 1290 Infinity LC System. 5. Německo, 2012. Dostupné také z: https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/G4220-90301_1290InfinityLC-System_EN.pdf
- [225] CROSS, Timothy. HPLC or UHPLC? Analyte Guru™ Thermo Fisher Scientific [online]. 2019 [cit. 2021-5-24]. Dostupné z: <https://analyteguru.com/hplc-or-uhplc/>
- [226] NOVÁKOVÁ, Lucie, Ludmila MATYSOVÁ a Petr SOLICH. Advantages of application of UPLC in pharmaceutical analysis. *Talanta* [online]. 2006, 68(3), 908-918 [cit. 2021-5-24]. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2005.06.035
- [227] How many Data Points to be acquired across an LC peak. USA, 2007. Dostupné také z: https://www.agilent.com/cs/library/Support/Documents/FAQ_Approved_PDF_Template_enough_datapoints.pdf
- [228] HOFFMANN, Edmond de a Vincent STROOBANT. *Mass spectrometry: principles and applications*. 3rd ed. Hoboken, NJ: J. Wiley, c2007. ISBN 978047003310-4.
- [229] MALLET, Claude R., Ziling LU a Jeff R. MAZZEO. A study of ion suppression effects in electrospray ionization from mobile phase additives and solid-phase extracts. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* [online]. 2004, 18(1), 49-58 [cit. 2021-5-24]. ISSN 0951-4198. Dostupné z: doi:10.1002/rcm.1276
- [230] GAO, S, Z ZHANG a H KARNES. Sensitivity enhancement in liquid chromatography/atmospheric pressure ionization mass spectrometry using derivatization and mobile phase additives. *Journal of Chromatography B* [online]. 2005, 825(2), 98-110 [cit. 2021-5-24]. ISSN 15700232. Dostupné z: doi:10.1016/j.jchromb.2005.04.021
- [231] KRUBE, Anneli a Karl KAUPMEES. Adduct Formation in ESI/MS by Mobile Phase Additives. *Journal of The American Society for Mass Spectrometry* [online]. 2017, 28(5), 887-894 [cit. 2021-5-24]. ISSN 1044-0305. Dostupné z: doi:10.1007/s13361-017-1626-y

- [232] H. GROSS, Jürgen. Mass Spectrometry: A textbook. Third Edition. Germany - Heidelberg: Springer, 0017n. 1. ISBN 978-3-319-54397-0.
- [233] Johnson, Andrew & Carlson, Erin. (2015). Collision-Induced Dissociation Mass Spectrometry: A Powerful Tool for Natural Product Structure Elucidation. *Analytical chemistry*. 46. 10.1021/acs.analchem.5b01543.
- [234] Evers, Richard. (2014). Development of a Liquid Chromatography Ion Trap Mass Spectrometer Method for Clinical Drugs of Abuse Testing with Automated On-Line Extraction Using Turbulent Flow Chromatography. 10.13140/2.1.2125.1367.
- [235] Santoiemma, Giacomo. (2017). Recent methodologies for studying the soil organic matter. *Applied Soil Ecology*. 123. 546-550. 10.1016/j.apsoil.2017.09.011.
- [236] SOLER, Carla, Brett HAMILTON, Ambrose FUREY, Kevin J. JAMES, Jordi MAÑES a Yolanda PICÓ. Comparison of four mass analyzers for determining carbosulfan and its metabolites in citrus by liquid chromatography/mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* [online]. 2006, 20(14), 2151-2164 [cit. 2021-5-24]. ISSN 0951-4198. Dostupné z: doi:10.1002/rcm.2561
- [237] ROUSU, Timo, Jukka HERTTUAINEN a Ari TOLONEN. Comparison of triple quadrupole, hybrid linear ion trap triple quadrupole, time-of-flight and LTQ-Orbitrap mass spectrometers in drug discovery phase metabolite screening and identification in vitro - amitriptyline and verapamil as model compounds. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* [online]. 2010, 24(7), 939-957 [cit. 2021-5-24]. ISSN 09514198. Dostupné z: doi:10.1002/rcm.4465
- [238] Considerations of the use of Triple Quadrupoles or Ion Traps in Quantitative Applications. Novatia [online]. USA, 2009 [cit. 2021-5-24]. Dostupné z: <https://www.enovatia.com/wp-content/uploads/2009/07/QuadTrapQuan.pdf>
- [239] Liquid Chromatography/Mass Spectrometry, MS/MS and Time of Flight MS [online]. Washington, DC: American Chemical Society, 2003 [cit. 2021-5-24]. ACS Symposium Series. ISBN 9780841238251. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bk-2003-0850.ch002>
- [240] Workhorses of the Chromatography Lab: Quadrupoles and Ion Traps. Singapur, 2014. Dostupné také z: <http://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/WP-10427-GC-LC-MS-Workhorses-Quadrupoles-Ion-Traps-WP10427-EN.pdf>
- [241] SOLER, Carla, Jordi MAÑES a Yolanda PICÓ. Comparison of liquid chromatography using triple quadrupole and quadrupole ion trap mass analyzers to determine pesticide residues in oranges. *Journal of Chromatography A* [online]. 2005, 1067(1-2), 115-125 [cit. 2021-5-24]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2004.10.032
- [242] LYUBIMOV, Alexander V. Encyclopedia of Drug Metabolism and Interactions [online]. 2011-12-16 [cit. 2021-5-24]. Dostupné z: doi:10.1002/9780470921920.edm096
- [243] PAIVA, L., T.K.S. FIDALGO, L.P. DA COSTA, L.C. MAIA, L. BALAN, K. ANSELME, L. PLOUX a R.M.S.M. THIRÉ. Antibacterial properties and compressive strength of new one-step preparation silver nanoparticles in glass ionomer cements (NanoAg-GIC). *Journal of Dentistry* [online]. 2018, 69, 102-109 [cit. 2021-5-24]. ISSN 03005712. Dostupné z: doi:10.1016/j.jdent.2017.12.003

- [244] EICHMAN, Henry J., Bryan J. ECK a Anthony F. LAGALANTE. A comparison of electrospray ionization, atmospheric pressure chemical ionization, and atmospheric pressure photoionization for the liquid chromatography/tandem mass spectrometric analysis of bisphenols. Application to bisphenols in thermal paper receipts. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* [online]. 2017, 31(20), 1773-1778 [cit. 2021-5-24]. ISSN 09514198. Dostupné z: doi:10.1002/rcm.7950
- [245] LEGRAND, Pauline, Anne DESDION, Gaétan BOCCADIFUOCO, Amélie DUFAÏ WOJCICKI, Alan WORSLEY, Vincent BOUDY a Sophie Goulay DUFAY. Development of an HPLC/UV method for the evaluation of extractables and leachables in plastic: Application to a plastic-packaged calcium gluconate glucoheptonate solution. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2018, 155, 298-305 [cit. 2021-5-24]. ISSN 07317085. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpba.2018.03.044
- [246] DEVIOT, Marc, Isabelle LACHAISE, Christof HÖGG, Jürgen DURNER, Franz-Xaver REICHL, Jean-Pierre ATTAL a Elisabeth DURSUN. Bisphenol A release from an orthodontic resin composite: A GC/MS and LC/MS study. *Dental Materials* [online]. 2018, 34(2), 341-354 [cit. 2021-5-24]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2017.11.018
- [247] MICHELSEN, Vibeke Barman, Grete MOE, Rita SKÅLEVIK, Einar JENSEN a Henning LYGRE. Quantification of organic eluates from polymerized resin-based dental restorative materials by use of GC/MS. *Journal of Chromatography B* [online]. 2007, 850(1-2), 83-91 [cit. 2021-5-24]. ISSN 15700232. Dostupné z: doi:10.1016/j.jchromb.2006.11.003
- [248] ORTENGREN, Ulf, Sarka LANGER, Anna GORANSSON a Ted LUNDGREN. Influence of pH and time on organic substance release from a model dental composite: a fluorescence spectrophotometry and gas chromatography/mass spectrometry analysis. *European Journal of Oral Sciences* [online]. 2004, 112(6), 530-537 [cit. 2021-5-24]. ISSN 0909-8836. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0722.2004.00164.x
- [249] Tuna, Elif & Gökçen-Röhlig, Bilge & Sancakli, Erkan & Evlioglu, Gulumser & Gencay, Koray. (2013). Influence of acrylic resin polymerization methods on residual monomer release. *The journal of contemporary dental practice*. 14. 259-64.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ČSN EN ISO	Česká verze mezinárodní normy
LC-MS	kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
WHO	Světová zdravotnická organizace
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (USA)
OSN	Organizace spojených národů
UNEP	program OSN pro životní prostředí
EU	Evropská unie
IUPAC	Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii
CAS	registrační číslo
DNA	kyselina deoxyribonukleová
LD50	letální dávka pro 50 % testovaných jedinců
STD	analyt ve standardu
DP	degradační produkt
Imp	nečistota ve standardu ze syntézy
RNA	kyselina ribonukleová
ESI	elektrosprej
ED	endokrinní disruptor
ECHA	Evropská agentura pro chemické látky
SVHZ	Seznam látek vzbuzující mimořádné obavy
ISO	Mezinárodní organizace pro normalizaci
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
LC-DAD	kapalinová chromatografie s diodovým polem
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
UPLC	ultraúčinná kapalinová chromatografie

VUT FCH	Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická
ÚCHTOŽP	Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí
HPLC-ESI-IT	spojení vysokoúčinné kapalinové chromatografie s iontovou pastí za ionizace elektrosprejem
UPLC-ESI-TQ	spojení ultraúčinné kapalinové chromatografie s trojitým kvadrupólem za ionizace elektrosprejem
NP	systém normálních fází
RP	systém obrácených fází
HETP	výškový ekvivalent teoretického patra
MS	hmotnostní spektrometrie
IT	iontová past
TQ	trojitý kvadrupól
TOF	analyzátor doby letu
FTICR	iontová cyklotronová rezonance s Fouriérovou transformací
LC-MS/MS	kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostně spektrometrickou detekcí
QqQ	trojitý kvadrupól
MRM	monitorování vícenásobných reakcí
APCI	chemická ionizace za atmosférického tlaku
EIC	extrahovaný iontový chromatogram
LOQ	limit kvantifikace
LOD	limit detekce
LLOQ	dolní limit kvantifikace
ULOQ	horní limit kvantifikace
SIM	monitorování vybraného iontu
ZK	zubní kompozit

8 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha č. 1: Výsledky kumulativní extrakce látek ze zubních kompozitů do různých extrakčních medií

Příloha č. 1: Výsledky kumulativní extrakce látek ze zubních kompozitů do různých extrakčních medií

Tabulka 31: Výsledky kumulativní extrakce látek z materiálu FD4X a Ever X Posterior za teploty 37 °C do H₂O, PBS a EtOH

37 °C		Doba extrakce [den]	DMAEMA [µg/g]	HEMA [µg/g]	CQ [µg/g]	TEGDMA [µg/g]	UDMA [µg/g]	BisGMA [µg/g]	BisEMA [µg/g]
FD4X	H ₂ O	3	2,594±2,516	11,00±0,38	0,1571±0,0206	226,1±15,9	5,175±0,381	28,23±0,66	0,3083±0,0070
		10	3,241±2,649	20,11±1,45	0,1571±0,0206	301,1±17,9	25,76±7,07	37,06±2,99	0,3083±0,0070
		30	3,241±2,649	24,19±2,68	0,1571±0,0206	325,4±16,0	34,99±8,73	37,06±2,99	0,3083±0,0070
	PBS	3	0,3814±0,0857	9,321±1,493	0,0431±0,0609	187,6±18,8	2,986±0,139	27,72±0,51	0,2945±0,0012
		10	0,8089±0,0737	17,52±2,59	0,0431±0,0609	327,8±67,1	16,36±3,44	36,25±2,20	0,2945±0,0012
		30	0,8089±0,0737	20,43±4,48	0,0431±0,0609	346,2±65,0	26,48±3,67	36,25±2,20	0,2945±0,0012
	EtOH	3	66,38±11,90	17,21±0,97	0,2426±0,0050	470,0±20,6	389,7±11,8	950,2±25,0	1846±298
		10	130,7±15,5	17,21±0,97	0,2426±0,0050	552,3±24,3	553,3±129,3	1204±36	2573±533
		30	130,7±15,5	18,93±1,23	0,2426±0,0050	573,8±24,1	751,0±121,3	1334±55	3206±678
ever X Posterior	H ₂ O	3	LOD	2,500±2,288	0,0705±0,0705	352,6±1,3	0,8513±0,8513	26,31±0,04	2,959±1,562
		10	LOD	2,500±2,288	0,0705±0,0705	385,5±8,8	1,043±0,772	26,31±0,04	2,959±1,562
		30	LOD	2,500±2,288	0,0705±0,0705	389,4±8,5	1,043±0,772	26,31±0,04	2,959±1,562
	PBS	3	LOD	0,0552±0,0552	0,1069±0,1069	312,5±0,5	0,0542±0,0542	26,44±0,01	0,6065±0,0544
		10	LOD	0,0552±0,0552	0,1069±0,1069	365,5±1,4	0,111±0,047	26,44±0,01	0,6065±0,0544
		30	LOD	0,0552±0,0552	0,1069±0,1069	370,3±0,7	0,111±0,047	26,44±0,01	0,6065±0,0544
	EtOH	3	LOD	LOD	0,1079±0,1079	438,3±25,4	0,6219±0,2364	1564±15	9,858±0,808
		10	LOD	LOD	0,1079±0,1079	481,0±25,3	1,676±0,511	1764±204	17,52±2,89
		30	LOD	LOD	0,1079±0,1079	494,0±26,0	1,676±0,511	2001±231	18,63±2,91

Tabulka 32: Výsledky kumulativní extrakce látek z materiálu FD4X a Ever X Posterior za teploty 50 °C do H₂O, PBS a EtOH

50 °C		Doba extrakce [den]	DMAEMA [µg/g]	HEMA [µg/g]	CQ [µg/g]	TEGDMA [µg/g]	UDMA [µg/g]	BisGMA [µg/g]	BisEMA [µg/g]
FD4X	H ₂ O	3	0,6341±0,0415	30,43±3,96	0,1592±0,0239	230,7±33,2	33,11±3,13	0,3142±0,0175	0,1219±0,1138
		10	1,446±0,299	41,60±7,14	0,1592±0,0239	239,4±33,2	59,06±1,83	0,3142±0,0175	0,1219±0,1138
		30	1,446±0,299	44,05±8,09	0,1592±0,0239	244,9±35,8	59,11±1,77	0,3943±0,1010	0,1219±0,1138
	PBS	3	0,2775±0,0463	21,30±4,30	LOD	176,3±21,7	4,876±0,431	0,2956±0,0107	0,0059±0,0035
		10	0,8158±0,0372	32,61±10,13	LOD	183,1±23,3	17,66±0,65	0,2956±0,0107	0,0059±0,0035
		30	0,8158±0,0372	35,76±10,59	LOD	196,4±25,5	17,66±0,65	0,2956±0,0107	0,0059±0,0035
	EtOH	3	5,795±1,218	30,71±8,61	0,2771±0,0700	435,1±91,0	1282±437	1163±164	1714±760
		10	71,66±9,38	30,71±8,61	0,2771±0,0700	444,3±91,1	1669±397	1456±248	2485±1092
		30	73,75±9,44	36,10±8,79	0,2771±0,0700	480,7±10,9	1812±379	1612±262	3131±1153
ever X Posterior	H ₂ O	3	LOD	0,3652±0,0315	LOD	242,2±10,1	2,605±1,604	0,4722±0,0958	2,017±0,835
		10	LOD	0,3652±0,0315	LOD	242,6±10,0	2,886±1,705	0,4722±0,0958	2,017±0,835
		30	LOD	0,3652±0,0315	LOD	242,6±10,0	2,886±1,705	0,4722±0,0958	2,017±0,835
	PBS	3	LOD	0,6209±0,0745	LOD	211,9±22,9	1,147±0,060	0,3269±0,0029	0,6737±0,0223
		10	LOD	0,8214±0,1260	LOD	213,6±23,8	1,296±0,080	0,3269±0,0029	0,6737±0,0223
		30	LOD	0,8214±0,1260	LOD	215,8±23,9	1,296±0,080	0,3269±0,0029	0,6737±0,0223
	EtOH	3	LOD	1,086±0,307	0,2421±0,0815	408,9±45,2	0,6857±0,5487	2231±65	39,33±7,92
		10	LOD	1,086±0,307	0,2421±0,0815	410,7±45,1	1,112±0,455	2795±66	42,87±8,67
		30	LOD	1,086±0,307	0,2421±0,0815	413,5±44,9	1,551±0,639	3071±93	44,49±9,24

Tabulka 33: Výsledky kumulativní extrakce látek z materiálu FF6X a Ever X Flow za teploty 37 °C do H₂O, PBS a EtOH

37 °C		Doba extrakce [den]	DMAEMA [µg/g]	HEMA [µg/g]	CQ [µg/g]	TEGDMA [µg/g]	UDMA [µg/g]	BisGMA [µg/g]	BisEMA [µg/g]
FF6X	H ₂ O	3	0,3921±0,3492	9,160±2,767	LOD	125,5±28,0	4,559±1,179	29,81±2,36	0,8403±0,2402
		10	0,9802±0,8930	24,48±9,72	LOD	206,5±48,8	22,39±9,14	33,30±1,17	0,8403±0,2402
		30	0,9802±0,8930	35,42±15,75	LOD	256,3±72,4	33,64±9,05	33,30±1,17	0,8403±0,2402
	PBS	3	LOD	9,583±0,800	LOD	147,7±14,9	2,963±0,337	28,83±2,10	0,4338±0,0328
		10	LOD	23,53±1,92	LOD	305,8±16,0	18,67±2,94	28,83±2,10	0,4338±0,0328
		30	LOD	27,51±2,56	LOD	323,7±13,6	28,15±2,83	28,83±2,10	0,4338±0,0328
	EtOH	3	25,77±10,08	55,61±22,84	0,4395±0,0218	631,2±149,2	444,2±70,7	1115±203	2523±1194
		10	45,52±12,24	55,61±22,84	0,4395±0,0218	687,4±160,4	1146±441	1521±237	4050±1548
		30	45,52±12,24	57,71±22,88	0,4395±0,0218	698,5±160,1	1332±480	1736±294	4824±1676
ever X Flow	H ₂ O	3	LOD	0,4888±0,0971	0,0709±0,0709	77,61±8,09	10,89±5,97	28,83±1,40	0,8866±0,4820
		10	LOD	0,4888±0,0971	0,1418±0,0709	100,4±5,0	21,18±6,03	37,50±4,26	0,8866±0,4820
		30	LOD	0,6405±0,2487	0,1418±0,0709	101,8±4,8	23,50±4,66	37,50±4,26	0,8866±0,4820
	PBS	3	LOD	0,4116±0,0328	0,1227±0,0023	122,3±14,7	2,922±0,051	28,19±0,09	0,3974±0,0210
		10	LOD	0,4116±0,0328	0,1227±0,0023	156,9±17,9	5,197±0,166	32,60±0,18	0,3974±0,0210
		30	LOD	0,4116±0,0328	0,1227±0,0023	158,4±18,1	7,479±0,007	32,60±0,18	0,3974±0,0210
	EtOH	3	LOD	LOD	LOD	191,1±14,1	37,61±1,04	36,56±0,73	1565±34
		10	LOD	LOD	LOD	196,6±14,6	123,2±34,4	45,14±2,02	1767±67
		30	LOD	LOD	LOD	197,0±14,5	157,2±37,3	45,14±2,02	2061±77

Tabulka 34: Výsledky kumulativní extrakce látek z materiálu FF6X a Ever X Flow za teploty 50 °C do H₂O, PBS a EtOH

50 °C		Doba extrakce [den]	DMAEMA [µg/g]	HEMA [µg/g]	CQ [µg/g]	TEGDMA [µg/g]	UDMA [µg/g]	BisGMA [µg/g]	BisEMA [µg/g]
FF6X	H ₂ O	3	0,742±0,128	32,63±5,72	0,1324±0,0067	232,9±27,5	44,02±8,97	0,3358±0,0180	0,7587±0,1884
		10	1,440±0,639	51,44±8,26	0,1324±0,0067	236,7±28,4	71,07±10,65	0,3358±0,0180	0,7587±0,1884
		30	1,228±0,916	55,34±8,54	0,1324±0,0067	250,7±30,1	71,14±10,62	0,3358±0,0180	0,7587±0,1884
	PBS	3	LOD	38,41±9,42	LOD	238,4±30,6	6,679±1,293	0,3380±0,0341	0,3105±0,0540
		10	LOD	52,91±9,12	LOD	244,4±33,4	13,21±1,98	0,3380±0,0341	0,3105±0,0540
		30	LOD	56,24±9,85	LOD	270,7±40,6	13,21±1,98	0,3380±0,0341	0,3105±0,0540
	EtOH	3	2,465±0,671	64,55±26,32	LOD	554,2±160,7	1028±99	1671±144	5603±2311
		10	21,75±3,19	64,55±26,32	LOD	558,1±160,9	1395±169	1970±287	6046±2637
		30	21,75±3,19	64,55±26,32	LOD	571,3±156,4	1470±214	2059±299	6521±2702
ever X Flow	H ₂ O	3	LOD	1,349±0,023	LOD	75,60±21,93	38,91±23,13	0,3943±0,0204	1,355±0,668
		10	LOD	1,349±0,023	LOD	84,68±23,05	47,23±24,67	0,3943±0,0204	1,355±0,668
		30	LOD	1,349±0,023	LOD	84,68±23,05	47,41±24,67	0,3943±0,0204	1,355±0,668
	PBS	3	LOD	0,9048±0,2130	LOD	37,80±10,61	6,979±1,503	0,3331±0,0059	0,3631±0,0299
		10	LOD	1,608±0,354	LOD	37,80±10,61	10,63±1,48	0,3331±0,0059	0,3631±0,0299
		30	LOD	1,651±0,397	LOD	38,00±10,66	10,82±1,51	0,3331±0,0059	0,3631±0,0299
	EtOH	3	LOD	0,7269±0,2509	0,0675±0,0675	91,36±13,34	389,2±51,4	2,042±0,069	261,5±36,6
		10	LOD	0,7269±0,2509	0,0675±0,0675	95,65±14,12	448,8±54,4	2,042±0,069	407,4±81,6
		30	LOD	0,7269±0,2509	0,0675±0,0675	96,02±14,27	507,7±79,6	3,164±0,299	797,7±27,0

Tabulka 35: Výsledky kumulativní extrakce látek z materiálu FD4X a FF6X za teploty 37 °C do solného roztoku umělých slin a citráto-fosfátového pufru o různém pH

37 °C		Doba extrakce [den]	DMAEMA [µg/g]	HEMA [µg/g]	CQ [µg/g]	TEGDMA [µg/g]	UDMA [µg/g]	BisGMA [µg/g]	BisEMA [µg/g]
FD4X	sliny	3	0,0905±0,0223	2,312±0,515	LOD	17,01±1,22	LOD	LOD	LOD
		10	0,1442±0,0088	6,221±1,980	LOD	31,13±6,08	LOD	LOD	LOD
	pH 4	3	1,847±0,064	2,574±0,262	LOD	16,48±1,11	LOD	LOD	LOD
		10	4,785±0,324	6,293±1,015	LOD	31,17±7,37	LOD	LOD	LOD
	pH 6	3	1,024±0,015	2,193±0,081	LOD	10,39±2,89	LOD	LOD	LOD
		10	2,362±0,147	5,018±0,224	LOD	21,55±1,30	LOD	LOD	LOD
	pH 8	3	LOD	1,143±0,094	LOD	4,912±3,416	LOD	LOD	LOD
		10	LOD	2,299±0,353	LOD	5,676±3,338	LOD	LOD	LOD
FF6X	sliny	3	LOD	1,204±0,178	LOD	8,451±0,924	LOD	LOD	LOD
		10	0,0285±0,0403	2,181±0,148	LOD	10,60±0,89	LOD	LOD	LOD
	pH 4	3	1,158±0,090	1,097±0,135	LOD	8,068±2,237	LOD	LOD	LOD
		10	3,004±0,042	3,298±0,569	LOD	13,26±1,87	LOD	LOD	LOD
	pH 6	3	0,3280±0,0275	0,8109±0,2646	LOD	7,687±1,705	LOD	LOD	LOD
		10	0,7444±0,0578	2,664±0,466	LOD	13,84±3,28	LOD	LOD	LOD
	pH 8	3	LOD	1,337±1,044	LOD	8,377±8,637	LOD	LOD	LOD
		10	LOD	3,023±2,486	LOD	12,65±14,26	LOD	LOD	LOD

Tabulka 36: Výsledky kumulativní extrakce látek z materiálu FD4X a FF6X za teploty 50 °C do solného roztoku umělých slin a citráto-fosfátového pufru o různém pH

50 °C		Doba extrakce [den]	DMAEMA [µg/g]	HEMA [µg/g]	CQ [µg/g]	TEGDMA [µg/g]	UDMA [µg/g]	BisGMA [µg/g]	BisEMA [µg/g]
FD4X	sliny	3	0,3773±0,0516	4,293±0,608	LOD	45,18±11,58	LOD	LOD	LOD
		10	0,3994±0,0731	8,517±1,236	LOD	70,09±10,79	LOD	LOD	LOD
	pH 4	3	13,15±1,60	4,484±0,838	LOD	32,31±7,72	LOD	LOD	LOD
		10	24,68±1,59	9,815±1,756	LOD	58,23±10,04	LOD	LOD	LOD
	pH 6	3	6,391±0,320	5,701±0,481	LOD	68,02±11,24	LOD	LOD	LOD
		10	8,516±0,667	10,50±0,57	LOD	91,07±7,85	LOD	LOD	LOD
	pH 8	3	LOD	2,739±0,398	LOD	8,907±10,043	LOD	LOD	LOD
		10	0,0432±0,0269	4,775±0,364	LOD	16,58±10,45	LOD	LOD	LOD
FF6X	sliny	3	LOD	3,104±1,226	LOD	27,72±11,19	LOD	LOD	LOD
		10	LOD	7,878±1,799	LOD	43,85±17,39	LOD	LOD	LOD
	pH 4	3	5,093±0,435	3,894±1,353	LOD	43,04±20,69	LOD	LOD	LOD
		10	9,553±0,786	8,269±2,266	LOD	55,09±26,45	LOD	LOD	LOD
	pH 6	3	1,957±0,079	1,784±0,319	LOD	14,90±1,91	LOD	LOD	LOD
		10	2,791±0,129	4,526±0,178	LOD	22,71±4,71	LOD	LOD	LOD
	pH 8	3	LOD	0,7614±0,1599	LOD	6,347±1,179	LOD	LOD	LOD
		10	0,0968±0,0304	2,794±0,544	LOD	8,769±1,482	LOD	LOD	LOD